

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LAIS DANCIGUER GUANAES

SÍNTESE E AVALIAÇÃO FOTOFÍSICA DE HÍBRIDOS PORFIRÍNICOS COM 1,4-DI-
HIDROPIRIDINAS E PIRIDINAS



CURITIBA
2019

LAIS DANCIGUER GUANAES

SÍNTESE E AVALIAÇÃO FOTOFÍSICA DE HÍBRIDOS PORFIRÍNICOS COM 1,4-DI-
HIDROPIRIDINAS E PIRIDINAS

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção
do grau de Doutora em Ciências Farmacêuticas,
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Alan Guilherme Gonçalves.

Co-orientadores: Prof^a. Dr^a. Sandra Mara Woranovicz
Barreira; Prof. Dr. Diogo Ricardo Bazan Ducatti.

CURITIBA

2019

Guanaes, Lais Danciguer

Síntese e avaliação fotofísica de híbridos porfíricos com 1,4-di-hidropiridinas e piridinas [recurso eletrônico] / Lais Danciguer Guanaes – Curitiba, 2019.

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2019.

Orientador: Professor Dr. Alan Guilherme Gonçalves

Coorientadora: Professora Dra. Sandra Mara Woranovicz Barreira

Coorientador: Professor Dr. Ricardo Bazan Ducatti

1. Porfirinas. 2. 1,4-di-hidropridina. 3. Piridinas. 4. Ensaios fotofísicos. 5. Fotossensibilizadores. 6. Oxigênio singleto. I. Gonçalves, Alan Guilherme. II. Barreira, Sandra Mara Woranovicz. III. Ducatti, Diogo Ricardo Bazan. IV. Universidade Federal do Paraná. V. Título.

CDD 615.1



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS - 40001016042P8

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **LAIS DANCIGUER GUANAES** intitulada: **Síntese e avaliação fotofísica de híbridos porfirínicos com 1,4-di-hidropiridinas e piridinas**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 25 de Janeiro de 2019.

ALAN GUILHERME GONÇALVES
Presidente da Banca Examinadora

LETÍCIA BONANCIO CERQUEIRA
Avaliador Externo (UNIBRASIL)

ANGELA CRISTINA LEAL BADARÓ TRINDADE
Avaliador Externo (UFPR)

LEANDRO PIOVANI
Avaliador Externo (UFPR)

ALEXANDRE ORSATO
Avaliador Externo (UEL)

Dedicado este trabalho a Deus!

And as You speak

A hundred billion galaxies are born

In the vapor of Your breath the planets form

If the stars were made to worship so will I

I can see Your heart in everything You've made

Every burning star

A signal fire of grace

If creation sings Your praises so will I

(So Will I - Hillsong United)

AGRADECIMENTOS

Ao meu amado amigo, DEUS, detentor de todo conhecimento e responsável pela minha capacitação. Me vejo apenas como uma pessoa que revela e multiplica o conhecimento que vem de Deus. Sem Ele nada sou e nada sei. “Que as palavras da minha boca e a meditação do meu coração sejam agradáveis a ti, Senhor, minha rocha e meu Resgatador – Salmos 19:14”.

Ao meu pai José e a minha mãe Márcia que foram os escolhidos para me instruir e me preparar para vida. Agradeço a eles por terem como prioridade em suas vidas a minha educação e estarem ao meu lado em todos os momentos. Ao meu amado marido Edson, meu grande incentivador, que desde o começo acreditou em mim e esteve comigo do princípio ao fim, ele é quem me orienta, me direciona, me ajuda e me protege. Aos seus sogros, Edson e Regina, por de todas as maneiras estarem do nosso lado durante o doutorado.

Ao meu orientador Professor Alan pela confiança, por todo o acompanhamento durante o trabalho, pela dedicação e orientação. Aos meus co-orientadores Professor Diogo e Professora Sandra por todas as colaborações durante o trabalho, pelo incentivo, pelo acolhimento e amizade que se construiu durante esse período.

Aos amigos que ganhei durante todo esse período: Camila, Janaína, Gislaine, Carol que fizeram meus dias mais alegres, sou grata por ter visto e participado das conquistas e mudanças na vida de cada uma de vocês. Aos alunos de IC Lucas e Isabel que trabalharam diretamente comigo.

Em especial aos meus amigos: Matheus, Ingrid e Juliana. Eles foram essenciais nesses anos, a Ju com toda sua calma e paciência foi minha “madrinha” no laboratório, me ensinando tudo que sei. A Ingrid, com todo seu equilíbrio emocional, foi a calmaria em meio as inúmeras tempestades. O Matheus foi a “loucura” nos dias tristes e tensos com as piadas e risadas mais divertidas. Vocês são essenciais.

Ao Departamento de Bioquímica da UFPR, em especial aos professores Miguel Nosedá e Maria Eugênia Duarte pela prontidão em ajudar. Ao professor Guilherme I. Sasaki pela disponibilização do laboratório de RMN. A Flávia Degaut pelo auxílio e disponibilização do laboratório de espectrometria de massas. Ao departamento de Química da UFPR, na pessoa do Professor Andersson Barison pelo auxílio nas análises de RMN.

Ao Departamento de Farmácia da UFPR, em especial ao professor Roberto Pontarolo por ceder o espaço para as análises das propriedades fotofísicas e pelas análises no infravermelho. A Gracinha, técnica da Central Analítica, por toda ajuda nas análises das propriedades fotofísicas.

Aos professores: Angela e Rilton pelas sugestões e correções na banca de qualificação. Aos membros da banca: Prof^a Dr^a Angela Cristina Leal Badaró Trindade, Prof^a Dr^a. Letícia Bonâncio, Prof^o Dr. Alexandre Orsato e Prof^o Dr. Leandro Piovan pela disponibilidade em corrigir e participar desse momento importante para mim.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, PRONEXCarboidratos, Fundação Araucária pelo suporte financeiro e a CAPES pela bolsa de estudos.

RESUMO

A resistência a múltiplos fármacos (RMF) é um dos principais obstáculos para o sucesso da quimioterapia antineoplásica. A RMF é definida como a capacidade das células cancerosas em desenvolver resistência a diversos fármacos não relacionados. Três classes de compostos farmacologicamente ativos (di-hidropiridinas, piridinas e porfirinas) foram estudados individualmente em cânceres resistentes à múltiplos fármacos. Estudos tem demonstrado que a terapia fotodinâmica é capaz reverter esta resistência. Com o intuito de obter novos híbridos porfirínicos capazes de serem aplicados como fotossensibilizadores na terapia fotodinâmica, este trabalho objetivou sintetizar e avaliar as propriedades fotofísicas de novos híbridos porfirínicos com 1,4-di-hidropiridinas e piridinas. Neste trabalho descreveu-se a síntese de seis novos híbridos porfirínicos, três porfirinas-1.4-di-hidropiridinas e 3 porfirinas-piridinas. Foi realizado um estudo das metodologias convencionais para obtenção das substâncias em questão. Os melhores rendimentos foram obtidos para síntese dos híbridos porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (12 %) e porfirina -1.4-di-hidropiridina *trans*-A₂B₂ (10 %). Para elencar as moléculas mais promissoras para utilização na terapia fotodinâmica levou-se em consideração os rendimentos de síntese e os resultados de ensaios fotofísicos. Por meio da análise dos dados obtidos neste trabalho pode-se constatar que os híbridos porfirínicos A₄ (porfirina-1,4-di-hidropiridina A₄ e porfirina-piridina A₄) são os mais promissores para futuros estudo *in vitro* e *in vivo* em comparação com as demais moléculas estudadas. Esta constatação deve-se ao fato de que estes compostos apresentaram características desejadas para um bom fotossensibilizador, como por exemplo, a fotoestabilidade, o maior rendimento de oxigênio singleto e a não agregação em meio aquoso.

Palavras-chave: porfirinas, 1,4-di-hidropiridina, piridina, ensaios fotofísicos, fotossensibilizador, oxigênio singleto.

ABSTRACT

Multiple drug resistance (MDR) is one of the major obstacles to the success of antineoplastic chemotherapy. MDR is defined as the ability of cancer cells to develop resistance to several unrelated drugs. Three classes of pharmacologically active compounds (dihydropyridines, pyridines and porphyrins) were individually studied in multiple drug resistance. Studies have shown that PDT is able to reverse this resistance. This work aimed to synthesize and evaluate the photophysical properties of new porphyrin hybrids with 1,4-dihydropyridines and pyridines capable being applied as photosensitizers in photodynamic therapy. In this work we report the synthesis of six new porphyrin hybrids, three porphyrins-1,4-dihydropyridines and three porphyrins-pyridines. A study of the conventional methodologies to obtain the substances in question was carried out. The best yields were obtained for the synthesis of the porphyrin-1,4-dihydropyridine A₃B (12%) and porphyrin-1,4-dihydropyridine trans-A₂B₂ (10%). To select the most promising molecules for the use in photodynamic therapy, it was considered both the synthesis yields and the photophysical evaluation. The results allowed to elect the porphyrin A₄ (porphyrin-1,4-dihydropyridine A₄ and porphyrin-pyridine A₄) as the most promising photosensitizers for future photodynamic therapy *in vitro* and *in vivo* evaluation due to their photostability, higher oxygen singlet production and lack of self-assembling behavior in aqueous media.

Key-words: porphyrins, dihydropyridine, pyridine, photophysical evaluation, photosensitizer, oxygen singlet.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 20 |
| 2. OBJETIVOS | 22 |
| 2.1 Objetivo geral | 22 |
| 2.2 Objetivos específicos | 23 |
| 3. REVISÃO DA LITERATURA | 25 |
| 3.1 CÂNCER RESISTENTE À MÚLTIPLOS FÁRMACOS | 25 |
| 3.2 TERAPIA FOTODINÂMICA | 27 |
| 3.2.1 A origem da Terapia Fotodinâmica | 27 |
| 3.2.2 Princípios gerais da Terapia Fotodinâmica | 30 |
| 3.2.3 O papel da luz na Terapia Fotodinâmica | 34 |
| 3.2.4 Fotossensibilizadores utilizados na Terapia Fotodinâmica | 36 |
| 3.3 PROPRIEDADES DE UM FOTOSSENSIBILIZADOR IDEAL | 39 |
| 3.3.1 Características químicas | 39 |
| 3.3.2 Características fotofísicas | 39 |
| 3.3.3 Características farmacológicas e toxicológicas | 40 |
| 3.4 PORFIRINAS | 40 |
| 3.4.1 Estrutura química e nomenclatura das porfirinas | 40 |
| 3.4.2 Propriedades fotofísicas | 42 |
| 3.4.3 Metodologias de síntese de porfirinas <i>meso</i> -substituídas | 44 |
| 3.5 Di-HIDROPIRIDINAS | 46 |
| 3.5.1 Propriedades específicas das di-hidropiridinas | 47 |
| 3.5.2 Síntese das 1,4-di-hidropiridinas | 50 |
| 3.5.2.1 Síntese clássica de Hantzsch | 50 |
| 3.5.2.2 Síntese via intermediários | 51 |
| 3.6 PIRIDINAS | 52 |
| 3.6.1 Propriedades específicas das piridinas | 52 |

| | |
|---|----|
| 3.6.2 Síntese de piridinas..... | 54 |
| 3.6.2.1 Reações de condensação | 54 |
| 3.6.2.2 Reações de cicloadição | 56 |
| 3.6.2.3 Reações de rearranjo..... | 57 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS | 59 |
| 4.1 MÉTODOS GERAIS | 59 |
| 4.1.1 Purificação | 59 |
| 4.1.1.1 Cromatografia em coluna de sílica | 59 |
| 4.1.1.2 Cromatografia em camada delgada | 59 |
| 4.1.1.3 Precipitação | 60 |
| 4.1.2. Caracterização química..... | 60 |
| 4.1.2.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN) | 60 |
| 4.1.2.2 Espectrometria de Massas | 60 |
| 4.1.2.3 Espectrofotometria na região do infravermelho | 61 |
| 4.1.3 Ensaio fotofísicos | 61 |
| 4.1.3.1 Varredura no Ultravioleta-visível | 61 |
| 4.1.3.2 Estudo de estabilidade | 62 |
| 4.1.3.3 Estudo da geração de oxigênio singleto..... | 62 |
| 4.2 SÍNTESE DOS INTERMEDIÁRIOS-CHAVE ALDEÍDO-1,4-DI-HIDROPIRIDINA (7) E MESO-1,4-DI-HIDROPIRIDINA DIPIRROMETANO. | 64 |
| 4.2.1 Síntese do aldeído-1,4-di-hidropiridina (7) | 64 |
| 4.2.2 Síntese do meso-1,4-di-hidropiridina dipirrometano (8)..... | 66 |
| 4.3 SÍNTESE DOS HÍBRIDOS PORFIRINA-1,4-DI-HIDROPIRIDINA A ₃ B, TRANS-A ₂ B ₂ e A ₄ | 67 |
| 4.3.1 Síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A ₃ B..... | 67 |
| 4.3.2 Síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina trans-A ₂ B ₂ | 69 |
| 4.3.3 Síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A ₄ | 71 |

| | |
|--|-----|
| 4.4 SÍNTESE DOS HÍBRIDOS PORFIRINA-PIRIDINA A ₃ B (4), TRANS-A ₂ B ₂ (5) e A ₄ (6)..... | 72 |
| 4.4.1 Síntese do híbrido porfirina-piridina A ₃ B 4..... | 72 |
| 4.4.2 Síntese do híbrido porfirina-piridina <i>trans</i> -A ₂ B ₂ | 74 |
| 4.4.3 Síntese do híbrido porfirina-piridina A ₄ | 75 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES | 77 |
| 5.1 Síntese dos intermediários-chave | 77 |
| 5.1.1 Síntese do aldeído-1,4-di-hidropiridina (7) | 77 |
| 5.1.2 Síntese do intermediário-chave <i>meso</i> -1,4-di-hidropiridina dipirrometano (8) | 82 |
| 5.2 Síntese dos híbridos porfirina-1,4-di-hidropiridinas A ₂ B (1), <i>trans</i> -A ₂ B ₂ (2) e A ₄ (3)..... | 86 |
| 5.2.1 Síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A ₃ B (1)..... | 88 |
| 5.2.2 Síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina <i>trans</i> -A ₂ B ₂ (2) | 95 |
| 5.2.3 Síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A ₄ (3) | 100 |
| 5.3 Síntese dos híbridos porfirina-piridina A ₃ B (4), <i>trans</i> -A ₂ B ₂ (5) e A ₄ (6) | 102 |
| 5.4 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS..... | 104 |
| 5.4.1 Caracterização dos intermediários-chave (7) e (8) | 104 |
| 5.4.1.1 Aldeído-1,4-di-hidropiridina (7) | 104 |
| 5.4.1.2 <i>meso</i> -1,4-di-hidropiridina dipirrometano (8)..... | 109 |
| 5.4.2 Caracterização dos híbridos porfirina-1,4-di-hidropiridina (1-3) | 114 |
| 5.4.2.1 Porfirina-1,4-di-hidropiridina (3)..... | 114 |
| 5.4.2.2 Porfirina-1,4-di-hidropiridina <i>tran</i> -A ₂ B ₂ (2) | 119 |
| 5.4.2.3 Porfirina-1,4-di-hidropiridina A ₄ (3) | 124 |
| 5.4.3 Caracterização dos híbridos porfirina-piridina (4-6) | 129 |
| 5.4.3.1 Porfirina-piridina A ₃ B (4)..... | 129 |
| 5.4.3.2 Porfirina-piridina <i>trans</i> -A ₂ B ₂ (5) | 134 |
| 5.4.3.3 Porfirina-piridina A ₄ (6) | 138 |

| | |
|---|-----|
| 5.5 Avaliação das propriedades fotofísicas dos híbridos porfirínicos 1-6..... | 142 |
| 5.5.1 Perfil espectral de absorção na região do Ultravioleta-visível..... | 142 |
| 5.5.2 Avaliação da fotoestabilidade dos híbridos porfirínicos 1-6 | 145 |
| 5.5.3 Avaliação da geração de oxigênio singlete..... | 147 |
| 5.5.4 Cálculo do rendimento quântico | 149 |
| 6. CONCLUSÕES | 153 |
| 7. REFERÊNCIAS | 155 |

LISTA DE ABREVIATURAS

$\cdot\text{O}_2^-$: ânion radical superóxido

$\cdot\text{OH}$: radical hidroxila

$^1\text{O}_2$: oxigênio singleto

ABC: *ATP Binding Cassete* (Superfamília de transportadores ABC)

ALA: ácido aminolevulínico

DHP: di-hidropiridina

DDQ: 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona

DPBF: 1,3-difenilisobenzofurano

eq: equivalente

FS: fotossensibilizador

HMBC: *Heteronuclear Multiple Bond Correlation* (Correlação Heteronuclear de Múltiplas Ligações)

HPD: *Hematoporphyrin derivated* (Derivado hematoporfirina)

HSQC: *Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy* (Espectroscopia de Correlação Quântica Única Heteronuclear)

IV: infravermelho

RMF: resistência à múltiplos fármacos

NADH: Dinucleotídeo de nicotinamida e adenina

NADP: Dinucleotídeo de nicotinamida adenina fosfato

PDI: *Photodynamic Inactivation* (inativação fotodinâmica)

PDT: *photodynamic therapy* (terapia fotodinâmica)

P-gp: glicoproteína P

Q-TOF: espectrômetro Bruker MicroTOF-Q II XL

R_f: fator de retenção

RMCs: reações de multicomponentes

RMN: ressonância magnética nuclear

S₀: estado fundamental singleto

S₁: estado excitado singleto

T₁: estado excitado tripleto

TMS: tetrametilsilano

TPP: *meso-tetrafenilporfirina*

UV-vis: ultravioleta-visível

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|-----|
| Figura 1: Estrutura química da hematoporfirina..... | 28 |
| Figura 2: Diagrama modificado de Jablonski: demonstração do processo fotoquímico do tipo I e tipo II. | 31 |
| Figura 3: Mecanismos de morte celular na PDT..... | 33 |
| Figura 4: Alterações celulares na morte celular por apoptose. | 33 |
| Figura 5: Relação do comprimento de onda e a penetração da luz no tecido. | 36 |
| Figura 6: Primeira geração de fotossensibilizadores, Photofrin®. | 37 |
| Figura 7: Fotossensibilizadores de segunda geração..... | 38 |
| Figura 8: Porfina | 41 |
| Figura 9: Numeração do anel segundo a IUPAC (a) e segundo Fischer (b) | 41 |
| Figura 10: Perfil do espectro de absorção na região do UV-visível das porfirinas. ... | 43 |
| Figura 11: Perfil de intensidade das bandas Q de porfirinas. | 44 |
| Figura 12: Diferentes tipos de porfirina conforme o substituinte na posição <i>meso</i> do anel porfirínico. | 46 |
| Figura 13: Anéis di-hidropiridínicos. | 47 |
| Figura 14: NADH (18) e NAD ⁺ (19) | 48 |
| Figura 15: Nifedipino (20)..... | 48 |
| Figura 16: felodipino (21), nivaldipino (22) e anlodipino (23). | 49 |
| Figura 17: Estrutura química da piridina (32)..... | 52 |
| Figura 18: Estrutura química da Picolina (33)..... | 52 |
| Figura 19: Estruturas químicas da Niacina (34) e Piridoxina (35). | 53 |
| Figura 20: Estruturas químicas da Nicotina (36), Isoniazida (37), Sulfapiridina (38) e Inibidor da Topoisomerase I e II (39)..... | 53 |
| Figura 21: Exemplo de cálculo do tempo de retenção na cromatografia. | 79 |
| Figura 22: Espectro de RMN de ¹ H do aldeído-1,4-di-hidropiridina (7). | 105 |
| Figura 23: Espectro de RMN de ¹³ C do aldeído-1,4-di-hidropiridina (7)..... | 106 |
| Figura 24: Mapa de correlação direta H-C (HSQC) do aldeído-1,4-di-hidropiridina (7). | 107 |
| Figura 25: Mapa de correlação a longa distância H-C (HMBC) do aldeído-1,4-di-hidropiridina (7). | 107 |
| Figura 26: Espectro de massas do aldeído-1,4-di-hidropiridina (7)..... | 108 |
| Figura 27: Espectro de absorção na região do infravermelho do aldeído-1,4-di-hidropiridina (7). | 109 |

| | |
|---|-----|
| Figura 28: Espectro de RMN de ^1H do <i>meso</i> -1,4-di-hidropiridina dipirrometano (8). | 110 |
| Figura 29: Espectro de RMN de ^{13}C do <i>meso</i> -1,4-di-hidropiridina dipirrometano (8). | 111 |
| Figura 30: Espectro de massas do <i>meso</i> -1,4-di-hidropiridina (8). | 112 |
| Figura 31: Espectro de absorção na região do Infravermelho do <i>meso</i> -1,4-di-hidropiridina dipirrometano (8). | 113 |
| Figura 32: Espectro de RMN de ^1H do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A_3B (1). | 115 |
| Figura 33: Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A_3B (1). | 116 |
| Figura 34: Espectro de Massas da porfirina-1,4-di-hidropiridina A_3B (1). | 117 |
| Figura 35: Espectro de absorção na região do Infravermelho da porfirina-1,4-di-hidropiridina A_3B (1). | 118 |
| Figura 36: Espectro de RMN de ^1H da porfirina-1,4-di-hidropiridina <i>trans</i> - A_2B_2 (2). | 120 |
| Figura 37: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina-1,4-di-hidropiridina <i>trans</i> - A_2B_2 (2). | 121 |
| Figura 38: Espectro de massas da porfirina-1,4-di-hidropiridina <i>trans</i> - A_2B_2 (2). | 122 |
| Figura 39: Espectro de absorção na região do infravermelho da porfirina-1,4-di-hidropiridina <i>trans</i> - A_2B_2 (2). | 123 |
| Figura 40: Espectro de RMN de ^1H da porfirina-1,4-di-hidropiridina A_4 (3). | 125 |
| Figura 41: Mapa de correlação direta C-H (HSQC) da porfirina-1,4-di-hidropiridina A_4 (3). | 126 |
| Figura 42: Mapa de correlação a longa distância (HMBC) da porfirina-1,4-di-hidropiridina A_4 (3). | 127 |
| Figura 43: Espectro de Massas da porfirina-1,4-di-hidropiridina A_4 (3). | 128 |
| Figura 44: Espectro de RMN de ^1H da porfirina-piridina A_3B (4). | 130 |
| Figura 45: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina-piridina A_3B (4). | 131 |
| Figura 46: Espectro de massas da porfirina-piridina A_3B (4). | 132 |
| Figura 47: Espectro de absorção na região do Infravermelho da porfirina-piridina A_3B (4). | 133 |
| Figura 48: Espectro de RMN de ^1H da porfirina-piridina <i>trans</i> - A_2B_2 (5). | 135 |
| Figura 49: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina-piridina <i>trans</i> - A_2B_2 (5). | 136 |
| Figura 50: Espectro de massas da porfirina-piridina <i>trans</i> - A_2B_2 (5). | 136 |

| | |
|--|-----|
| Figura 51: Espectro de absorção na região do infravermelho da porfirina <i>trans</i> -A ₂ B ₂ (5). | 137 |
| Figura 52: Espectro de RMN de ¹ H da porfirina-piridina A ₄ (6). | 139 |
| Figura 53: Espectro de RMN de ¹³ C da porfirina-piridina A ₄ (6). | 140 |
| Figura 54: Espectro de Massas da porfirina-piridina A ₄ (6). | 141 |
| Figura 55: Espectro de absorção na região do infravermelho da porfirina-piridina A ₄ (6). | 142 |

LISTA DE ESQUEMAS

| | |
|---|----|
| Esquema 1: Esquema geral de síntese da <i>meso</i> tetrakisfenilporifirina (TPP). | 45 |
| Esquema 2: Síntese multicomponente de Hantzsch. | 50 |
| Esquema 3: Síntese via intermediários beta-cetoéster e enaminona. | 51 |
| Esquema 4: Síntese de Guareschi-Thorpe. | 54 |
| Esquema 5: Síntese de Chichibabin. | 55 |
| Esquema 6: Síntese de Bohmann-Rahtz | 55 |
| Esquema 7: Síntese de Kröhnke. | 56 |
| Esquema 8: Síntese de Boger. | 56 |
| Esquema 9: Síntese do antitumoral elipticina (58). | 57 |
| Esquema 10: Síntese de Boekelheide. | 57 |
| Esquema 11: Síntese de Ciamician-Dennstedt. | 58 |
| Esquema 12: Síntese do aldeído-1,4-di-hidropiridina segundo Teng e colaboradores (2008). | 78 |
| Esquema 13: Mecanismo de reação da formação do aldeído-1,4-di-hidropiridina (7) | 81 |
| Esquema 14: Síntese da porfirina <i>trans</i> -substituída via dipirrometano. | 82 |
| Esquema 15: Metodologias testadas para síntese do <i>meso</i> -1,4-di-hidropiridina dipirrometano (8). | 83 |
| Esquema 16: Mecanismo de reação de formação do dipirrometano. | 86 |
| Esquema 17: Metodologias de síntese de porfirinas <i>meso</i> substituídas. | 87 |
| Esquema 18: Metodologia de Lindsey e colaboradores (1987) com modificações para a síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A ₃ B (1). | 89 |

| | |
|---|-----|
| Esquema 19: Metodologia de Adler e colaboradores (1987) para a síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A ₃ B (1). | 92 |
| Esquema 20: Mecanismo de reação da síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A ₃ B (1). | 93 |
| Esquema 21: Metodologias clássicas para síntese da porfirina <i>trans</i> -A ₂ B ₂ | 96 |
| Esquema 22: Síntese da porfirina <i>trans</i> -A ₂ B ₂ via dipirrometano. | 96 |
| Esquema 25: Síntese da porfirina tetrapiridil por Adler e colaboradores (1967) | 101 |
| Esquema 26: Reação entre DBPF e ¹ O ₂ para formação do endoperóxido. | 148 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| Tabela 1: Lista dos principais fotossensibilizadores utilizados na clínica e sua aplicação clínica. | 30 |
| Tabela 2: Absorção máxima e tipo de administração dos principais fotossensibilizadores utilizados na clínica. | 35 |
| Tabela 3: Otimização da síntese do <i>meso</i> -1,4-di-hidropiridina dipirrometano. | 85 |
| Tabela 4 Otimização da a síntese de porfirina-1,4-di-hidropiridina A ₃ B (1) baseando-se nas condições de Lindsey, <i>et al</i> (1987) e Ló, <i>et al</i> (2011). | 91 |
| Tabela 5: Otimização de síntese da porfirina-1,4-di-hidropiridina A ₃ B (1) baseando-se nas condições de Adler <i>et al</i> , (1967). | 93 |
| Tabela 6: Otimização da síntese da porfirina-1,4-di-hidropiridina <i>trans</i> -A ₂ B ₂ (2). | 97 |
| Tabela 7: Otimização da síntese da porfirina <i>trans</i> -A ₂ B ₂ via dipirrometano. | 99 |
| Tabela 8: Otimização da síntese de porfirina-1,4-di-hidropiridina A ₄ (3). | 101 |
| Tabela 9: Rendimentos das sínteses dos híbridos porfirina-piridina (4-6). | 104 |
| Tabela 10: Rendimento quântico de ¹ O ₂ | 152 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|--|-----|
| Gráfico 1: Perfil das bandas Soret das porfirinas 1–6. | 143 |
| Gráfico 2: Perfil spectral na região do Ultravioleta-visível das bandas Q das porfirinas 1–6. | 144 |
| Gráfico 3: Avaliação da estabilidade no escuro dos híbridos porfirínicos 1–6. | 145 |

| | |
|--|-----|
| Gráfico 4: Avaliação da fotoestabilidade no claro dos híbridos porfirínicos 1–6. | 147 |
| Gráfico 5: Perfil de geração de oxigênio singleto dos híbridos porfirínicos 1-6..... | 148 |
| Gráfico 6: Decaimento da absorção do DPBF em 415 nm na presença do azul de metileno. | 150 |
| Gráfico 7: Decaimento da absorção do DPBF em 415 nm na presença do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A ₄ (3). | 150 |
| Gráfico 8: <i>Plot</i> do logaritmo natural da absorbância do DPBF (y) <i>versus</i> tempo de irradiação (x) das porfirinas 1-6 e do padrão azul de metileno. | 151 |

1.INTRODUÇÃO

A resistência a múltiplos fármacos (RMF) é um dos principais obstáculos para o sucesso da quimioterapia antineoplásica. A RMF é definida como a capacidade das células cancerosas em desenvolver resistência a diversos fármacos não relacionados (CAROSATI *et al.*, 2012; KLOPMAN; SHI; RAMU, 1997). O grau de resistência aos medicamentos varia entre as linhagens de células (KLOPMAN; SHI; RAMU, 1997; NIELSEN; SKOVSGAARD, 1992).

Três classes de compostos farmacologicamente ativos (di-hidropiridinas, piridinas e porfirinas) foram estudadas individualmente no tratamento de cânceres resistentes a múltiplos fármacos (BAKHSHESHIAN *et al.*, 2013; HUANG *et al.*, 2016; KAWASE; MOTOHASHI, 2003; KHEDKAR; AUTI, 2014; KRISHNAMURTHY; SCHUETZ, 2006; SHUDO *et al.*, 1990; SHUKLA *et al.*, 2006; WAKABAYASHI *et al.*, 2006; ZHOU *et al.*, 2005).

As 1,4-di-hidropiridinas e seus derivados piridínicos contêm um núcleo privilegiado e, se apropriadamente substituído, pode exercer a ação potente e seletiva em receptores diversos, canais iônicos e enzimas (CAROSATI *et al.*, 2012). Ambos possuem muitas atividades farmacológicas, tais como anti-hipertensivos (FOYE *et al.*, 2008; TESTA *et al.*, 1997; ZHOU *et al.*, 2011), anticâncer (ABBAS; EL SAYED; FATHY, 2010; KIUE *et al.*, 1990; SIRISHA; ACHAIHA; REDDY, 2010; ZHOU *et al.*, 2005), antileishmanial (MISRA *et al.*, 1991; PALIT; ALI, 2008; REIMÃO; SCOTTI; TEMPONE, 2010; TEMPONE; TANIWAKI; REIMÃO, 2009) entre outras (CAROSATI *et al.*, 2012; EDRAKI *et al.*, 2009; KHEDKAR; AUTI, 2014)..

As porfirinas são compostos macrocíclos amplamente utilizados como fotossensibilizadores na terapia fotodinâmica no tratamento do câncer (FELSHER, 2003). A terapia fotodinâmica (Photodynamic Therapy-PDT) é uma forma de fototerapia que envolve a administração de um fotossensibilizador, por via sistêmica ou tópica, seguido pela iluminação da lesão a ser tratada com luz visível, que, na presença de oxigênio tecidual, leva à geração de espécies citotóxicas e consequente morte celular e destruição tecidual (OCHSNER, 1997; DOUGHERTY, 1998; CASTANO, DEMIDOVA, HAMBLIN, 2004; SCHLAG, STEIN, EGGERMONT, 2007).

Fotossensibilizadores (FS) são moléculas fotoativas capazes de interagir com a luz levando a formação de espécies reativas do oxigênio como o oxigênio singleto e outras formas radicalares. As suas propriedades de interagir com a luz produzindo espécies reativas do oxigênio é conhecida como efeito fotodinâmico, o qual pode ser aplicado em diversas áreas (BRANCALEON; MOSELEY, 2002; CAVALCANTE, 2007)

Existem diversas classes de fotossensibilizadores sendo as principais os corantes de fenotiazida, o ácido 5-aminolevulínico (ALA), as ftalocianinas, (CALZAVARA-PINTON; VENTURINI; SALA, 2007), as clorinas (CALVETE; GOMES; MOURA, 2009; CUNHA; RIBEIRO, 2007), derivados de bacterioclorinas (CHEN; LI; PANDEY, 2004; GRIN; MIRONOV; SHTIL, 2008; LANG; MOSINGER; WAGNEROVÁ, 2004), purpurinas, derivados de benzoporfirinas, psarolenos e porfirinas (BRANCALEON; MOSELEY, 2002; SENGE, 2012; TOMÉ; NEVES; TOMÉ, 2005).

Para serem empregados na PDT, os fotossensibilizadores devem apresentar como regra geral: ausência de toxicidade no escuro, ou seja, os FS devem ser desprovidos de toxicidade na ausência de ativação da luz. Após irradiação da luz, os FS não podem ser genotóxicos e mutagênicos (CALZAVARA-PINTON; VENTURINI; SALA, 2007).

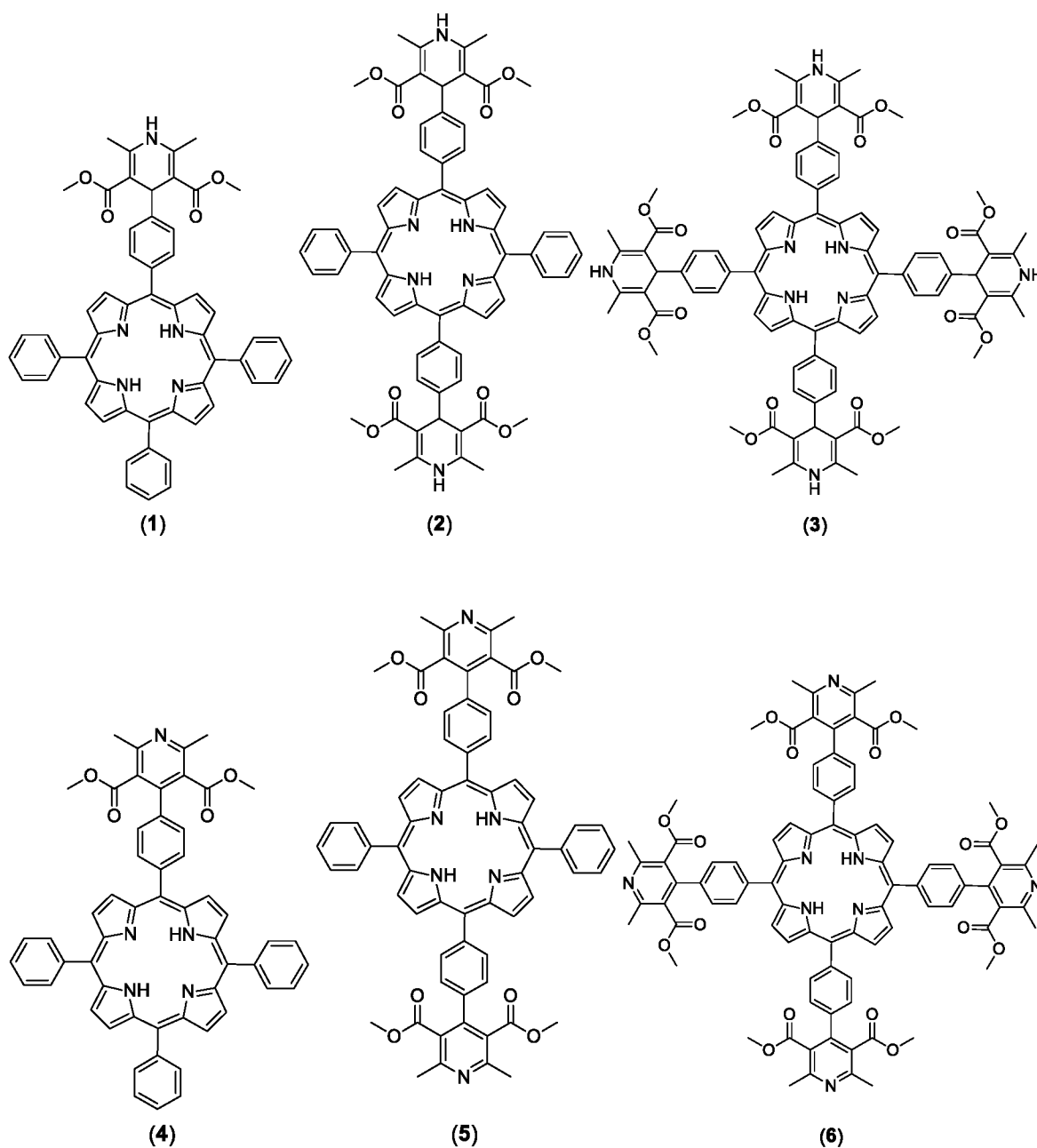
O desenvolvimento de fotossensibilizadores, por meio da hibridização de fotossensibilizadores com outras classes farmacológicas, tem sido alvo de diversos grupos de pesquisa (COUDHARY, *et al.*, 2018; FEDOROWICK; SACZEWSKI, 2018; MAMEDOV; KALININ, 2014; MORET; GOBBO; REDDI, 2015).

Tanto as porfirinas quanto as 1,4-di-hidropiridinas e piridinas, como exposto acima, são compostos promissores para atuar em cânceres resistentes à múltiplos fármacos. O grupo de pesquisa de Síntese de Heterocíclis e Glicoconjugados (SinHeGli) da Universidade Federal do Paraná, no qual o presente trabalho foi conduzido, vem trabalhando há mais de uma década na síntese de porfirinas, 1,4-di-hidropiridinas e piridinas. Diante disso, este trabalho buscou o desenvolvimento de híbridos porfirínicos com 1,4-di-hidropiridinas e piridinas, bem como a investigação de suas propriedades fotofísicas. Para melhor compreensão do trabalho, a subsequente revisão da bibliografia trará os conceitos básicos sobre terapia fotodinâmica, porfirinas, 1,4-di-hidropiridinas e piridinas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Sintetizar, caracterizar e avaliar as propriedades fotofísicas de novos híbridos porfirina-1,4-di-hidropiridinas A₃B (1), porfirina-1,4-di-hidropiridina *trans* A₂B₂ (2), porfirina-1,4-di-hidropiridina A₄ (3), porfirina-piridina A₃B (4), porfirina-piridina *trans* A₂B₂ (5), porfirina-piridina A₄ (6).



- Sintetizar o híbrido porfirina-piridina A_3B (**4**) por meio da oxidação do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A_3B (**1**).
- Sintetizar o híbrido porfirina-piridina *trans* A_2B_2 (**5**) por meio da oxidação do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A_2B_2 (**2**).
- Sintetizar o híbrido porfirina-piridina A_4 (**6**) por meio da oxidação do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A_4 (**3**).
- Determinar as propriedades fotofísicas dos fotossensibilizadores sintetizados (**1-6**): obtenção dos espectros eletrônicos de Ultravioleta-visível, estudos de fotoestabilidade e cálculo do rendimento quântico de oxigênio singleto para cada um dos híbridos sintetizados.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 CÂNCER RESISTENTE À MÚLTIPLOS FÁRMACOS

A resistência a múltiplos fármacos (RMF) é um dos principais obstáculos para o sucesso da quimioterapia antineoplásica. A RMF é definida como a capacidade das células cancerosas em desenvolver resistência a diversos fármacos não relacionados (CAROSATI *et al.*, 2012; KLOPMAN; SHI; RAMU, 1997). O grau de resistência demonstrado pelas células que apresentam RMF a medicamentos individuais varia entre as linhagens de células (KLOPMAN; SHI; RAMU, 1997; NIELSEN; SKOVSGAARD, 1992).

No entanto, há evidências que a super-expressão dos transportadores da superfamília de proteína ATP *Binding Cassete* (ABC) seja o mecanismo responsável pelo desenvolvimento da RMF. Os transportadores ABC, como por exemplo, glicoproteína-P (P-gp), ABCC1 e ABCG2, estão envolvidos no efluxo dos quimioterápicos pelas células cancerígenas. (KAWASE; MOTOHASHI, 2003; CAROSATI *et al.*, 2012).

As três classes de compostos que serão discutidos neste trabalho (di-hidropiridinas, piridinas e porfirinas), foram investigadas individualmente como substrato para os transportadores ABC (P-gp e ABCG2), uma vez que com a inibição dessas proteínas é possível aumentar a eficácia de dos quimioterápicos (BAKHSHESHIAN *et al.*, 2013; HUANG *et al.*, 2016; KAWASE; MOTOHASHI, 2003; KHEDKAR; AUTI, 2014; KRISHNAMURTHY; SCHUETZ, 2006; SHUDO *et al.*, 1990; SHUKLA *et al.*, 2006; WAKABAYASHI *et al.*, 2006; ZHOU *et al.*, 2005)..

As 1,4-di-hidropiridinas possuem um núcleo privilegiado que, se apropriadamente substituído, podem exercer ação potente e seletiva em diversos receptores, como por exemplo, canais iônicos, receptores, transportadores e enzimas (CAROSATI *et al.*, 2012). As 1,4-di-hidropiridinas possuem muitas atividades farmacológicas, como ação anti-hipertensiva (FOYE *et al.*, 2008; TESTA *et al.*, 1997; ZHOU *et al.*, 2011), anticâncer (ABBAS; EL SAYED; FATHY, 2010; KIUE *et al.*, 1990; SIRISHA; ACHAI AH; REDDY, 2010; ZHOU *et al.*, 2005), leishmanicida (MISRA *et al.*, 1991; PALIT; ALI, 2008; REIMÃO; SCOTTI; TEMPONE, 2010; TEMPONE; TANIWAKI; REIMÃO, 2009) entre outras aplicações (CAROSATI *et al.*, 2012; EDRAKI *et al.*, 2009; KHEDKAR; AUTI, 2014). 1,4 -Di-hidropiridinas comerciais (antagonistas

dos canais de cálcio) representam à primeira geração de fármacos capazes de reverter a RMF (CAROSATI *et al.*, 2012). Embora tenham sido eficientes para este fim, o uso dessas 1,4-di-hidropiridinas promovem efeitos cardiotóxicos, por meio do antagonismo dos canais de Ca^{2+} (PHILIP *et al.*, 1992). Estudos relataram que a presença de substituintes nas posições C3, C4 e C5 aumentam a capacidade dessas moléculas de agirem como substrato competitivo para as proteínas ABC e diminuindo a ação antagonistas dos canais de Ca^{2+} (TANABE *et al.*, 1998; TASAKA *et al.*, 2001; YOSHINARI *et al.*, 1989). Mehdipor e colegas (MIRI; MEHDIPOUR, 2008) relataram que grupos heteroaromáticos na posição C4 resultaram em di-hidropiridinas ideais para agir como substrato para proteínas ABC. As piridinas, produtos da oxidação de 1,4-di-hidropiridinas, demonstraram sucesso em reverter a RMF como substrato competitivo da glicoproteína-P (KISHBAUGH, 2016; SHUDO *et al.*, 1990; ZHOU *et al.*, 2005).

Pesquisas recentes sugerem que as porfirinas e benzoporfirinas, as quais atuam como agentes fotossensibilizadores na terapia fotodinâmica, podem ser substratos naturais da proteína ABCG2 (BAKHSHESHIAN *et al.*, 2013; HUANG *et al.*, 2016; KRISHNAMURTHY; SCHUETZ, 2006; WAKABAYASHI *et al.*, 2006). Em 2016, Huang e colegas relataram a primeira vez que a terapia fotodinâmica (utilizando o Visydine® como fotossensibilizador) reduziu a atividade das proteínas ABC, especialmente ABCG2, tendo como consequência o aumento as concentrações intracelulares do quimioterápico Irinotecan®. Neste estudo ficou comprovado que o sinergismo entre a terapia fotodinâmica e o Irinotecan aumentou a apoptose de células cancerígenas pancreáticas. Muitos estudos também mostraram que o mecanismo de morte celular ativado por terapia fotodinâmica pode dessensibilizar as proteínas ABC presente nas células resistentes à múltiplos fármacos (DOUGHERTY, *et al.*, 1998; DUSKA, *et al.*, 1999; DOLMANS, FUKUMURA, JAIN, 2003; ISHIKAWA, *et al.*, 2013).

O desenvolvimento de fotossensibilizadores de terceira geração, por meio da hibridização de fotossensibilizadores com outras classes farmacológicas, tem sido alvo de diversos grupos de pesquisa (COUDHARY, *et al.*, 2018; FEDOROWICK; SACZEWKI, 2018; MAMEDOV; KALININ, 2014; MORET; GOBBO; REDDI, 2015). A terapia fotodinâmica vem sendo utilizada como terapia alternativa no tratamento de diversos tipos de câncer (BONNETT; MARTÍNEZ, 2001; OCHSNER, 1997), somado a isso, como exposto anteriormente, a terapia fotodinâmica foi capaz de dessensibilizar as proteínas ABC e reverter a resistência à múltiplos fármacos

(DOUGHERTY, *et al.*, 1998; DUSKA, *et al.*, 1999; DOLMANS, FUKUMURA, JAIN, 2003; ISHIKAWA, *et al.*, 2013; HUANG, *et al.*, 2016). Tanto as porfirinas quanto as 1,4-di-hidropiridinas e piridinas, como exposto acima, são compostos promissores para atuar em cânceres resistentes à múltiplos fármacos.

3.2 TERAPIA FOTODINÂMICA

3.2.1 A origem da Terapia Fotodinâmica

A fototerapia é um método terapêutico que envolve utilização de luz. Considera-se que a luz solar é o único aspecto envolvido na cura de doenças de pele como o vitiligo, a psoríase e o câncer de pele (MCDONAGH, 2001). Esta terapia teve origem no Egito, Grécia e Índia, quando a população se expunha ao sol para manutenção da saúde e para fins terapêuticos, mas desapareceu por muitos séculos, sendo redescoberta pela civilização ocidental no início do século XX (DANIELL; HILL, 1991). Com o avanço da ciência, descobriu-se que o sol não era o único responsável pela resposta clínica, haviam também substâncias endógenas envolvidas na cura dos distúrbios. Sendo assim, o termo utilizado para descrever o tratamento que envolve a administração de luz e uma substância não tóxica (endógena, natural, semissintética ou sintética) é processo fotodinâmico (DANIELL; HILL, 1991; MCDONAGH, 2001; ABDEL-KADER, 2014).

Em 1900, Raab associou o corante acridina e luz solar e relatou a morte de um organismo eucariótico unicelular do gênero *Paramecium* (RAAB, 1990). A partir dessa observação, Raab concluiu que a luz ativava o corante de acridina provocando a morte do organismo. Diante disso, ele formulou a hipótese de que o corante de acridina converte a luz em uma forma de energia química ativa. Tal descoberta formou a base da terapia fotodinâmica e o início das investigações do mecanismo de ação da mesma (SIMPLÍCIO; MAIONCHI; HIOKA, 2002).

Após dois anos da descoberta de Raab, Finsen demonstrou que a tuberculose cutânea causada pelo micro-organismo *Lupus vulgaris* poderia ser curada com a radiação solar (FINSEN, 1902). Em 1903, Tappeiner e seu grupo de pesquisa foram considerados os pioneiros da fotobiologia. (JESIONEK; VON TAPPEINER, 1903; SIMPLÍCIO; MAIONCHI; HIOKA, 2002; STERNBERG; DOLPHIN; BRUEKNER, 1998). Eles cunharam o termo “ação fotodinâmica” e utilizaram diferentes corantes e

radiação eletromagnética, concomitantemente, para tratar câncer não melanoma e outras doenças dermatológicas como vitiligo e lúpus (PATRICE, 2016).

A investigação do mecanismo de ação da “ação fotodinâmica” levou Tappeiner e seu grupo de pesquisa a concluir que a morte celular nestes casos dependia de três componentes: substância ativa na luz (fotossensibilizador), luz e oxigênio, e que as espécies reativas do oxigênio ($\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{O}_2$, $^1\text{O}_2$), formadas pela ação sinérgica desses três componentes, eram responsáveis pela morte celular e destruição tecidual (ABDEL-KADER, 2014).

Em 1913, Meyer-Betz (STERNBERG; DOLPHIN; BRUEKNER, 1998) ingeriu 20 mg de uma substância que acreditava ser hematoporfirina pura e apresentou sensibilidade cutânea ao longo de meses. Policard (SIMPLÍCIO; MAIONCHI; HIOKA, 2002), no ano de 1924, iniciou estudos com porfirinas (BONNET, 1995).

O maior interesse nesta terapia surgiu em 1960 quando Lipson e Schwartz injetaram formulações brutas de hematoporfirina (**9**) (FIGURA 1) em um paciente com lesões neoplásicas e visualizaram, durante a cirurgia, a fluorescência das lesões. Posteriormente a essa descoberta, Schwartz reagiu a hematoporfirina com ácido acético e ácido sulfúrico obtendo uma mistura de porfirinas, as quais ele denominou de “derivados de hematoporfirina”, que foram utilizadas por Lipson para detecção de tumores (DOUGHERTY, *et al.*, 1998; SCHLAG, STEIN, EGGERMONT, 2007).

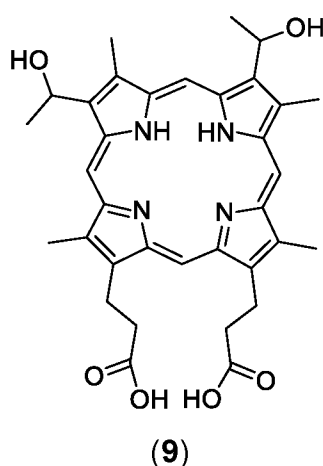


Figura 1: Estrutura química da hematoporfirina.
FONTE: DOUGHERTY, *et al.*, 1998.

Uma preparação parcialmente purificada dos “derivados de hematoporfirina” conhecida como Photofrin® foi o primeiro fotossensibilizador a obter aprovação pela *Food and Drug Administration* (FDA) para aplicação clínica no tratamento de vários

tipos de câncer. O monitoramento da resposta clínica e colateral do Photofrin® demonstrou algumas desvantagens. Percebeu-se que este composto produzia fototoxicidade cutânea prolongada, necessitando que o paciente evitasse a exposição à luz solar durante muitas semanas (BAAS, *et al.*, 1995). Além disso, o Photofrin® apresentava seletividade parcial aos tumores (ORENSTEIN, *et al.*; 1996) e não podia ser utilizado para tratar tumores em tecidos mais profundos, pois o composto apresenta banda de apó em baixo comprimento de onda (630 nm) com consequente pobre penetração da luz nos tecidos (SPIKES, 1990). Ainda, esta preparação apresenta-se como uma mistura complexa de estruturas incertas dificultando estimar a relação dose/resposta (KESSEL, THOMPSON, 1987).

Nos últimos tempos, muito trabalho tem sido feito para desenvolver novos fotossensibilizadores e atualmente existe um número expressivo de fotossensibilizadores para PDT, sendo difícil decidir quais são os mais adequados para cada doença em particular. A TABELA 1 traz os principais fotossensibilizadores utilizados na clínica e suas aplicações. Alguns fotossensibilizadores podem ser facilmente preparados por sínteses parciais a partir de materiais naturais abundantes, como heme, clorofila e bacterioclorofila ou por síntese total (CHILAKAMARTHI, GIRIBABU, 2017).

| Fotossensibilizador | Nome comercial | Condição clínica |
|----------------------------|-----------------------|--|
| Hematoporfirina | Photofrin® | Câncer de cabeça e pescoço, gastrointestinal, esôfago, pulmão e bexiga. |
| Verteporfirina | Visudyne | Câncer não melanoma, degeneração macular relacionada a idade, esôfago de Barrett. |
| Ácido 5-aminolevulínico | Levulan | Queratose actínica, acne, câncer de esôfago e gastrointestinal, carcinoma basocelular. |
| Aminolevulanato de metila | Metvix | Câncer não melanoma, carcinoma basocelular. |
| Levulanato de hexilamino | Hexvix | Fotodiagnóstico de câncer de bexiga. |
| Temoporfirina | Foscan | Câncer de cabeça e pescoço, carcinoma espinocelular. |
| Clorina e6 | Laserphyrin | Câncer de pulmão, tumores subcutâneos recorrentes. |

| | | |
|------------------------|-----------|--|
| Ftalocianina sulfatada | Photosens | Degeneração macular relacionada à idade, câncer de próstata. |
|------------------------|-----------|--|

Tabela 1: Lista dos principais fotossensibilizadores utilizados na clínica e sua aplicação clínica.

FONTE: CHILAKAMARTHI, GIRIBABU, 2017

3.2.2 Princípios gerais da Terapia Fotodinâmica

A terapia fotodinâmica (*Photodynamic Therapy*-PDT) é uma forma de fototerapia que envolve a administração de um fotossensibilizador, por via sistêmica ou tópica, no paciente com lesão, seguindo-se pela iluminação da lesão com luz visível, que, na presença de oxigênio tecidual, leva à geração de espécies citotóxicas e consequente morte celular e destruição tecidual (OCHSNER, 1997; DOUGHERTY, 1998; CASTANO, DEMIDOVA, HAMBLIN, 2004; SCHLAG, STEIN, EGGERMONT, 2007).

Os alvos biológicos da terapia fotodinâmica podem estar relacionados aos seres humanos, como no caso das células tumorais (BONNETT; MARTÍNEZ, 2001; OCHSNER, 1997) ou infecções localizadas provocadas por micro-organismos (PERUSSI, 2007). Quando o alvo biológico são células humanas, o processo fotodinâmico é denominado Terapia Fotodinâmica. Quando os alvos são micro-organismos ou estruturas específicas desses, o processo fotodinâmico é denominado Inativação Fotodinâmica (*Photodynamic Inactivation* - PDI) (GAD *et al.*, 2004).

As espécies citotóxicas responsáveis pela morte celular e destruição tecidual podem ser geradas por dois tipos de reação: reação do tipo I e reação do tipo II (BONNETT; MARTÍNEZ, 2001; ABDEL-KADER, 2014; CASTANO, DEMIDOVA, HAMBLIN, 2004).

A partir da interação do fotossensibilizador com a luz, ocorre a absorção de um fóton, processo denominado de sensibilização, o qual desencadeia uma série de mudanças no estado eletrônico do fotossensibilizador. Dessa maneira, o fotossensibilizador, que se encontrava no estado eletrônico fundamental singleto (S_0) é promovido ao estado excitado singleto (S_1). No estado S_1 , o qual apresenta vida curta, o fotossensibilizador pode retornar ao seu estado S_0 emitindo fluorescência, ou ser convertido a um outro estado excitado conhecido como tripleto (T_1). A conversão

do estado S_1 para T_1 se dá por meio de uma transição eletrônica conhecida como intercruzamento de sistemas (*intercrossing system-IS*), sendo considerada uma transição eletrônica proibida, pois envolve a inversão de spin eletrônico (BALZANI; CAMPAGNA, 2007; DONNELLY; MCCARRON; TUNNEY, 2008; JORI *et al.*, 2011). É importante destacar que substâncias orgânicas capazes de realizar o IS e, portanto, alcançar o estado T_1 , constituem um seleto grupo de compostos químicos. Tal propriedade está relacionada a um intrincado sistema de elétrons π conjugados, característica encontrada em todos os fotossensibilizadores utilizados na PDT (BALZANI; CAMPAGNA, 2007) (FIGURA 2)

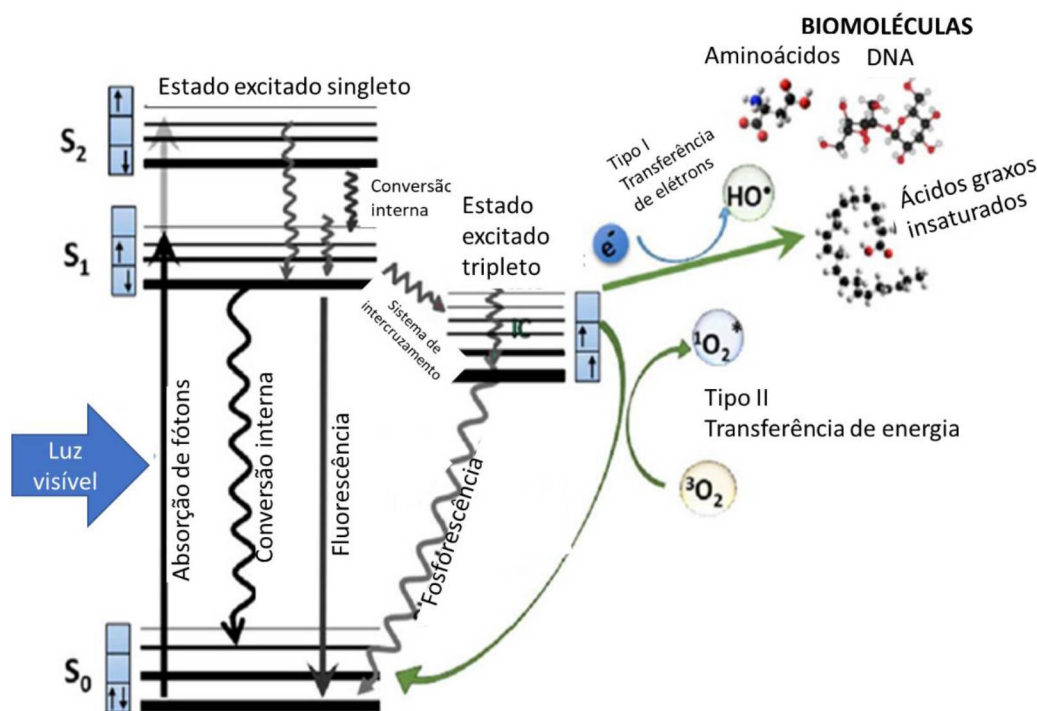


Figura 2: Diagrama modificado de Jablonski: demonstração do processo fotoquímico do tipo I e tipo II.

FONTE: Modificado e traduzido de ABRAHAMSE & HAMBLIN (2016).

Os dois tipos de reação (Tipo I e Tipo II) de geração de espécies citotóxicas ocorrem apenas quando o fotossensibilizador encontra-se no estado T_1 . A reação do tipo I envolve a transferências de elétrons do fotossensibilizador para o oxigênio tecidual formando espécies radicalares, tais como o radical hidroxila ($\cdot OH$) e o ânion radical superóxido ($\cdot O_2^-$). Estas espécies radicalares promove alterações de proteínas, membrana lipídica e DNA ocasionando a morte celular e destruição do tecido (PASS, 1993; DOUGHERTY *et al.*, 1998; JORI *et al.*, 2011; ABRAHAMSE; HAMBLIN, 2016).

A reação do Tipo II envolve a transferência de energia do fotossensibilizador para o oxigênio tecidual formando o oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$), o qual é uma potente espécie reativa do oxigênio, também, capaz de promover alterações de proteínas, membrana lipídica e DNA (ABRAHAMSE; HAMBLIN, 2016; BONNETT; MARTÍNEZ, 2001; DONNELLY; MCCARRON; TUNNEY, 2008; DOUGHERTY *et al.*, 1998; PASS, 1993).

Dessa maneira, na ausência de oxigênio, o processo fotodinâmico não ocorre. Tal fato foi confirmado por Matsumoto e colaboradores (2011) por meio da avaliação de um procedimento fotodinâmico com presença de luz e fotossensibilizador, mas na ausência de oxigênio, em atmosfera saturada de argônio.

A morte celular pode resultar de múltiplos mecanismos de sobreposição e ser medida por uma variedade de testes. Costuma-se dizer que a morte celular ocorre basicamente por três mecanismos: necrose (do grego nekros, cadáver), apoptose e autofagia (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015).

Acredita-se que a localização sub-celular (mitocôndria, lisossomos, retículo endoplasmático, membrana plasmática) do fotossensibilizador na célula desempenha um papel importante para definição do tipo de mecanismo de morte celular envolvido (FIGURA 3). Em geral, aceita-se que a apoptose é a principal modalidade de morte celular quando as células são tratadas com PDT *in vitro* (ABRAHAMSE; HAMBLIN, 2016).

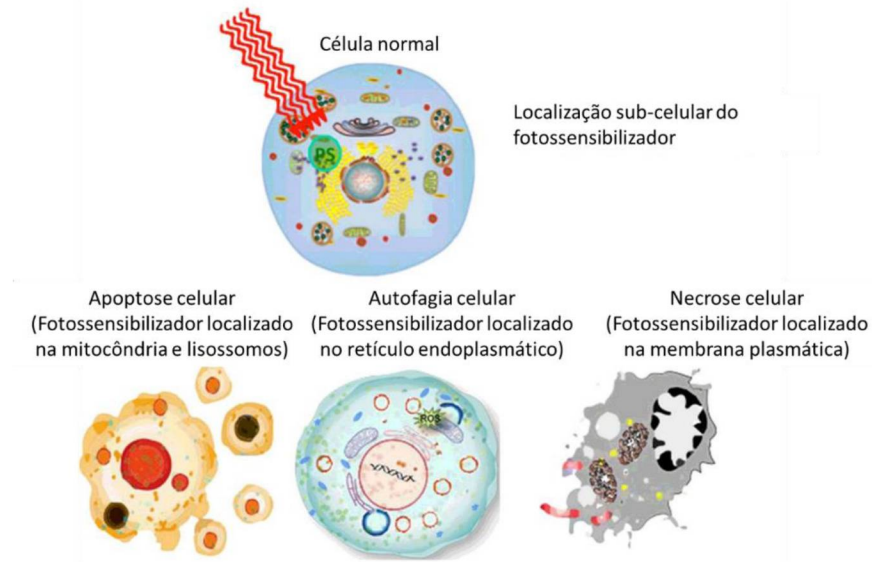


Figura 3: Mecanismos de morte celular na PDT
 FONTE: Traduzido de ABRAHAMSE, HAMBLIN, 2016.

Na apoptose, as primeiras alterações visíveis nas células são: o encolhimento e condensação, seguido da fragmentação de cromatina (FIGURA 4). Isso geralmente é associado com a quebra da dupla fita de DNA. Outras características são o colapso da estrutura do citoesqueleto, fragmentação nuclear e eventual desmembramento da célula inteira em corpos apoptóticos, sem ruptura a das organelas. Corpos apoptóticos são geralmente fagocitados, principalmente por macrófagos, um processo chamado eferocitose (do latim *effero*, levar um cadáver para a sepultura) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015).

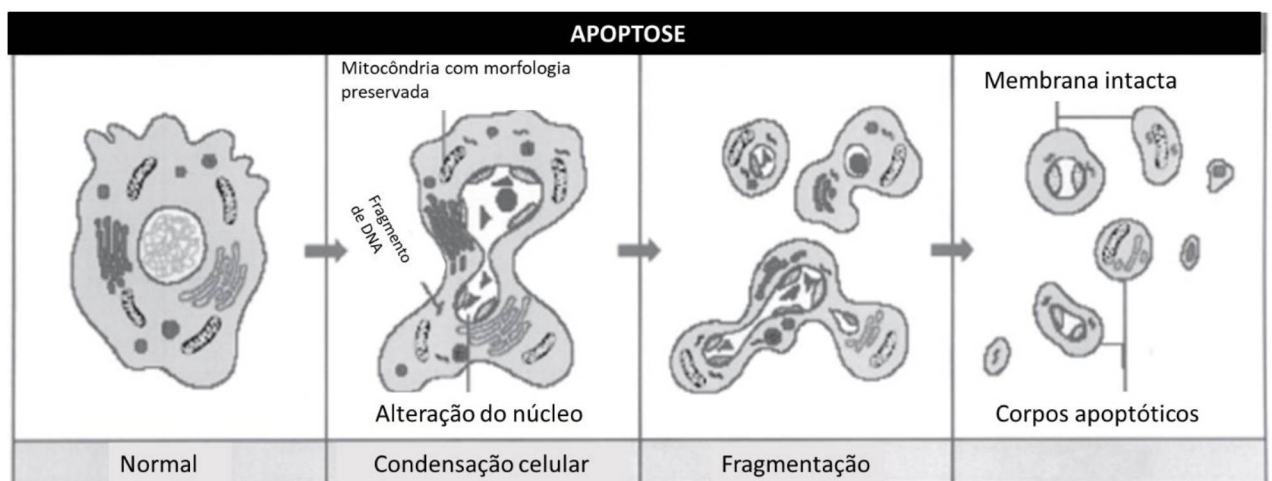


Figura 4: Alterações celulares na morte celular por apoptose.
 FONTE: Traduzido de HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2015.

A terapia fotodinâmica tem sido usada há muitos anos devido as suas vantagens sobre os outros tipos de tratamento. A primeira vantagem da terapia fotodinâmica está relacionada ao baixo efeito sistêmico gerado no paciente, uma vez que o tratamento ocorre apenas nas áreas onde a luz é administrada. Outra vantagem, é que a terapia fotodinâmica pode ser alternativa para pacientes que a cirurgia é contraindicada. Além disso, é um procedimento de baixo custo que pode ser repetido várias vezes. Por isso, oferece um meio de gestão a longo prazo do câncer, mesmo que a cura completa não seja possível (ABDEL-KADER, 2014).

3.2.3 O papel da luz na Terapia Fotodinâmica

Como a terapia fotodinâmica depende da entrega de luz localizada, ela pode ser aplicada apenas a tumores que podem ser alcançados pela luz, diretamente ou por meio de uma fibra óptica (PROFIO; DOIRON, 1987). Desta maneira, a fonte de luz e a entrega de luz são dois dos aspectos fundamentais para eficácia da terapia fotodinâmica. A escolha da fonte de luz pode ser determinada pela localização do tumor, pela quantidade de luz a ser administrada e pelo tipo do fotossensibilizador empregado. Lasers e lâmpadas foram empregados para realizar o PDT e a superioridade de uma fonte sobre a outra não foi demonstrada, portanto o uso de lasers ou lâmpadas depende da aplicação específica (BRACALEON; MOSELY, 2002).

Fotossensibilizadores que apresentam bandas de absorção em comprimentos de onda acima de 600 nm são indicados para aplicação na terapia fotodinâmica (TABELA 2). Estes fotossensibilizadores retêm altos rendimentos quânticos para reações tipo I ou II, associado a isso, luz em comprimento de onda maiores que 600 nm penetra mais profundamente no tecido (BRANCALEON, MOSELY, 2002).

| Fotossensibilizador | Absorção máxima | Administração |
|----------------------------|------------------------|----------------------|
| <i>Photofrin®</i> | 630 nm | Sistêmica |
| <i>Foscan®</i> | 652 nm | Sistêmica |
| <i>Visudyne®</i> | 690 nm | Sistêmica |
| <i>Levulan®</i> | 635 nm | Tópica |

Tabela 2: Absorção máxima e tipo de administração dos principais fotossensibilizadores utilizados na clínica.

FONTE: Traduzido e modificado de BRANCALEON e MOSELEY (2002)

A penetração da luz nos tecidos depende das características ópticas do tecido e da geometria do fornecimento da luz (PROFIO; DOIRON, 1987; RICHARDS-KORTUM; SEVICK-MURACA, 1996). Para melhor compreensão, alguns conceitos sobre as características ópticas dos tecidos biológicos serão explorados. Quando um fóton se propaga através de um meio diferente do vácuo, ele pode sofrer alguns fenômenos: ser absorvido, espelhado e refletido. Nos tecidos biológicos, absorção e espalhamento ocorrem simultaneamente como resultado de um processo estatístico, ou seja, existe uma probabilidade de um fóton ser absorvido, espalhado ou mesmo refletido (REGO FILHO, 2013).

Dependendo do comprimento de onda irradiado sobre o tecido, a luz pode ser pouco absorvida, tendo como consequência uma menor penetração óptica no tecido. A FIGURA 5 ilustra os fenômenos que podem ocorrer ao incidir luz sobre o tecido e a correlação entre comprimento de onda e penetração no tecido (REGO FILHO, 2013). É importante ressaltar que cada tecido biológico possui diferentes características ópticas, o tecido cerebral quando submetido a irradiação luminosa na faixa de 630 nm apresentará uma penetração óptica da luz de 800 μm , enquanto que o mesmo comprimento de onda no tecido da bexiga a penetração óptica será de 4 mm (RICHARDS-KORTUM; SEVICK-MURACA, 1996; SHACKLEY, *et al.*; 2000).

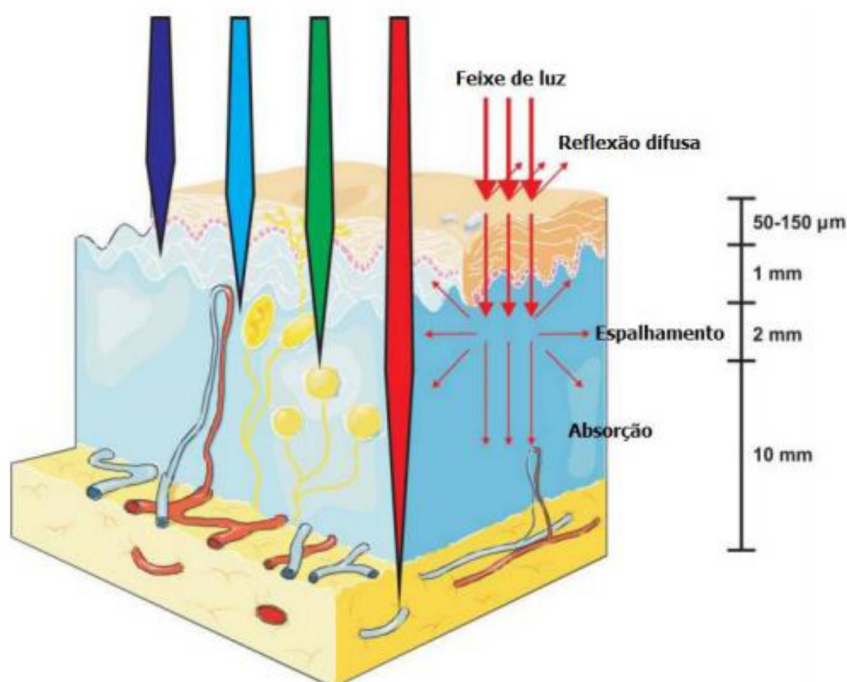


Figura 5: Relação do comprimento de onda e a penetração da luz no tecido.
 FONTE: REGO FILHO, 2013

A penetração da luz no tecido em comprimento de onda de 630 nm é 3 a 4 vezes maior que a penetração na faixa de comprimento de onda de 400–420 nm. Como resultado, a terapia fotodinâmica é geralmente realizada em comprimentos de onda maiores que 620 nm para que um volume maior tecido canceroso possa ser tratado (PROFIO; DOIRON, 1987).

3.2.4 Fotossensibilizadores utilizados na Terapia Fotodinâmica

Fotossensibilizadores são moléculas que sofrem sensibilização pela luz, por meio da absorção de um fóton, desencadeando uma série de mudanças no seu estado eletrônico, deixando-os susceptíveis a reagirem com o oxigênio tecidual. Tais reações formam espécies reativas do oxigênio, as quais possuem propriedades citotóxicas.

Os macrocíclos, representados pelas porfirinas, clorinas, bacterioclorinas, ftalocianinas e naftalocianinas, têm emergido como fotossensibilizadores no tratamento do câncer. Estes macrocíclos fotossensibilizadores podem ser classificados em primeira, segunda e terceira gerações.

Os fotossensibilizadores de primeira geração são representados pela hematoporfirina e o derivado hematoporfirínico parcialmente purificado (Photofrin®).

O Photofrin® (FIGURA 6) foi aprovado pela FDA para o tratamento câncer de pulmão, câncer de bexiga, câncer de esôfago e câncer cervical em estágio inicial. Apesar da ampla variedade de tratamentos contra o câncer (CHILAKAMARTHI, GIRIBABU, 2017), o Photofrin® apresenta algumas desvantagens tais como: baixa seletividade ao tecido canceroso (ORENSTEIN, *et al.*; 1996), fototoxicidade cutânea (BASS, *et al.*, 1995), difícil correlação dose/resposta por se apresentar em uma mistura de derivados hematoporfirínicos (KESSEL, THOMPSON, 1987). Os fotossensibilizadores de primeira geração ficam excitados apenas nos comprimentos de onda da região do visível, onde a penetração da luz através dos tecidos é baixa (SPIKES, 1990; CHILAKAMARTHI, GIRIBABU, 2017).

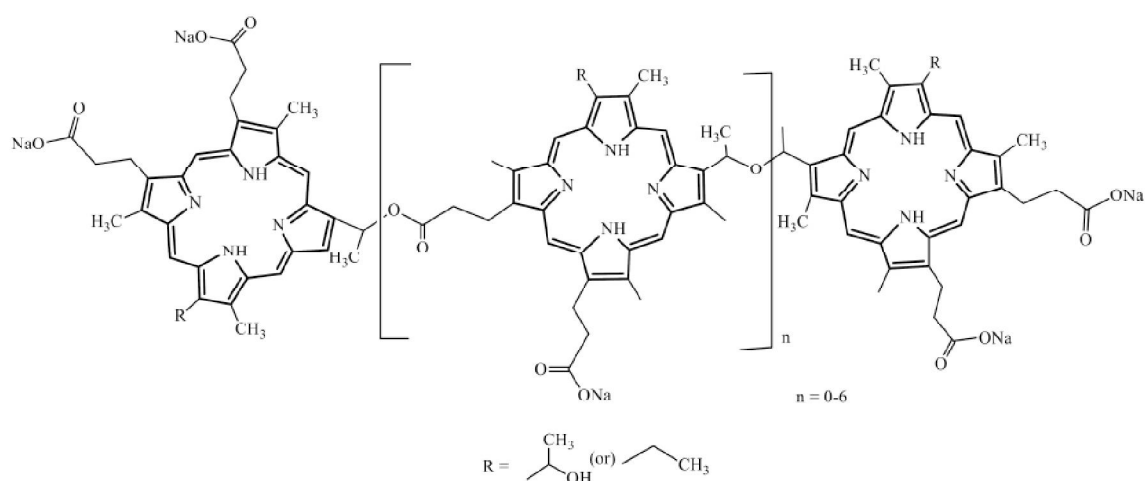


Figura 6: Primeira geração de fotossensibilizadores, Photofrin®.
FONTE: CHILAKAMARTHI, GIRIBABU (2017)

A segunda geração de fotossensibilizadores é constituída de compostos porfirínicos estruturalmente modificados e outros macrocíclos como: ftalocianinas, clorinas, bacterioclorinas e fulerenos. Todos eles com absorção de luz próxima da região do vermelho. Além desses macrocíclos tetrapirrólicos, também pertencem a segunda geração, o ácido aminolevulínico (ALA), a hipercina, o azul de metileno e o rosa begala, os três últimos são comumente usados na inativação fotodinâmica de fungos, vírus e bactérias. O ácido aminolevulínico (ALA) é o único fotossensibilizador de segunda geração de administração tópica, ele atua como precursor para síntese endógena da protoporfirina IX. A FIGURA 7 exemplifica alguns fotossensibilizadores de segunda geração.

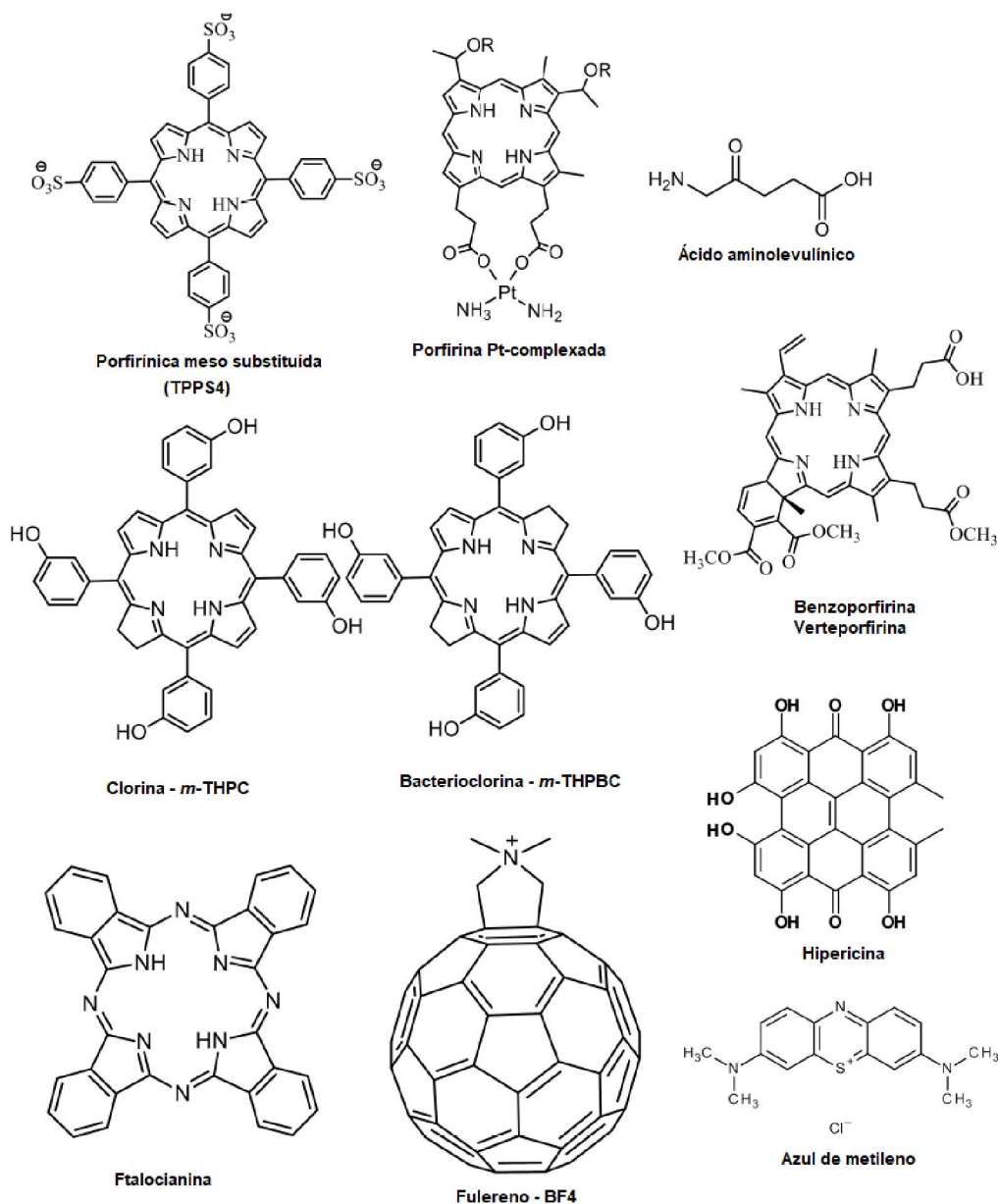


Figura 7: Fotossensibilizadores de segunda geração.

FONTE: Traduzido e modificado de CHILAKAMARTHI, GIRIBABU (2017).

Atualmente, os fotossensibilizadores de terceira geração em desenvolvimento buscam melhorar a seletividade dos compostos ao alvo molecular, para isso os macrociclos tetrapirrólicos são modificados por meio de duas estratégias sintéticas. A primeira visa a conjugação com biomoléculas: açúcares (DALLAGNOL, *et al.*, 2014), lipídeos (NATHAN, *et al.*, 2016; GRAVIER, *et al.*, 2009) ou aminoácidos (OROSZ, *et al.*, 2017). A segunda visa a formação de macrociclos tetrapirrólicos híbridos por meio de conjugação de dois macrociclos tetrapirrólicos (HE; YUE; KONG, 2017; HE, *et al.*, 2012; HIGASHINO, *et al.*, 2016; TANAKA, *et al.*, 2011) ou com a conjugação com

outras classes farmacológicas (COUDHARY, *et al.*, 2018; FEDOROWICK; SACZEWKI, 2018; MAMEDOV; KALININ, 2014; MORET; GOBBO; REDDI, 2015).

3.3 PROPRIEDADES DE UM FOTOSSENSIBILIZADOR IDEAL

Um fotossensibilizador ideal não pode ser definido apenas pelas suas características biológicas, químicas e físicas, deve-se levar em consideração também as necessidades do paciente (ALLISON *et al.*, 2004; PLAETZER *et al.*, 2009)

3.3.1 Características físico-químicas

Quimicamente, o fotossensibilizador ideal deve ser um composto único, bem caracterizado, com uma composição química conhecida e constante, de rota sintética curta e de alta reprodutibilidade, sendo então um composto de fórmula simples e estável (JOSEFSEN; BOYLE, 2008; SHARMAN; ALLEN; VAN LIER JE, 1999).

Com relação à solubilidade, os fotossensibilizadores ideais devem apresentar características anfifílicas, garantindo o transporte no sangue sem a formação de precipitados ou agregados, os quais atrapalham a capacidade do fotossensibilizador absorver luz, garantindo a penetração eficaz através da membrana plasmática das células (PLAETZER *et al.*, 2009). Além disso, os fotossensibilizadores devem apresentar uma maior retenção no tecido doente que no tecido saudável (JOSEFSEN; BOYLE, 2008; SHARMAN; ALLEN; VAN LIER JE, 1999).

3.3.2 Características fotofísicas

As características fotofísicas mais importantes de um fotossensibilizador correspondem ao comprimento de onda para ativação do fotossensibilizador e a eficiência quântica para excitação no estado T_1 . O comprimento de onda ideal encontra-se na faixa de 650 a 800 nm, sendo que quanto maior o comprimento de onda maior será a penetração da luz no tecido (JOSEFSEN; BOYLE, 2008; PLAETZER *et al.*, 2009; SHARMAN; ALLEN; VAN LIER JE, 1999).

Fotoestabilidade é outra característica importante para obtenção de um fotossensibilizador ideal, pois os períodos de irradiação de luz podem ser prolongados, contudo, dependendo da depuração biológica do fotossensibilizador, o

paciente pode apresentar fototoxicidade cutânea por um longo período (JOSEFSEN; BOYLE, 2008; PLAETZER *et al.*, 2009; SHARMAN; ALLEN; VAN LIER JE, 1999).

3.3.3 Características farmacológicas e toxicológicas

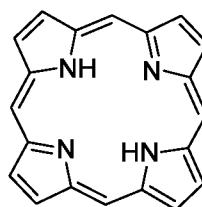
A característica mais importante neste aspecto é a seletividade do fotossensibilizador aos tecidos-alvo (células anormais), reduzindo os danos fotoinduzidos aos tecidos circundantes sadios. A alta seletividade apresentada por muitos fotossensibilizadores pode ser explicada por meio de alguns fenômenos como: (1) aumento da permeabilidade vascular dos fotossensibilizadores aos tumores; (2) diminuição do pH na região extracelular do tumor, pois pH baixo no fluido intersticial nos tumores facilita a distribuição seletiva dos fotossensibilizadores; (3) aumento da expressão de receptores de lipoproteínas de baixa densidade, desta maneira aumentando a afinidade do fotossensibilizador as células tumorais; (4) redução da drenagem linfática nos tumores; (5) elevação do número de macrófagos associados aos tumores, para que logo exerçam a fagocitose (PLAETZER *et al.*, 2009)

Um fotossensibilizador ideal não deve ser tóxico sem a presença de luz e no processo de fotodegradação não pode gerar metabólitos tóxicos ou mutagênicos (JOSEFSEN; BOYLE, 2008; PLAETZER *et al.*, 2009; SHARMAN; ALLEN; VAN LIER JE, 1999).

3.4 PORFIRINAS

3.4.1 Estrutura química e nomenclatura das porfirinas

As porfirinas são macrocíclos tetrapirrólicos, planares e conjugados, formadas por quadro unidades pirrólicas conectadas por pontes metínicas. O macrociclo central possui 20 átomos de carbono e 4 átomos de nitrogênio, e essa estrutura sem substituintes nas posições metínicas e β -pirrólicas recebe o nome de porfina (**10**) (FIGURA 8) (IUPAC, 1960). Dos 22 elétrons π no macrociclo, somente 18 deles contribuem para o seu caráter aromático. (MILGROM, 1997).

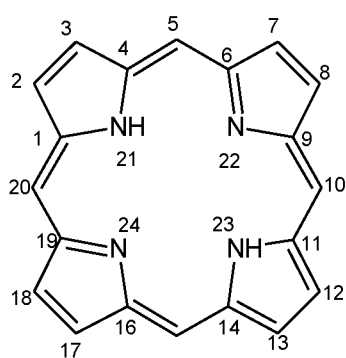


(10)

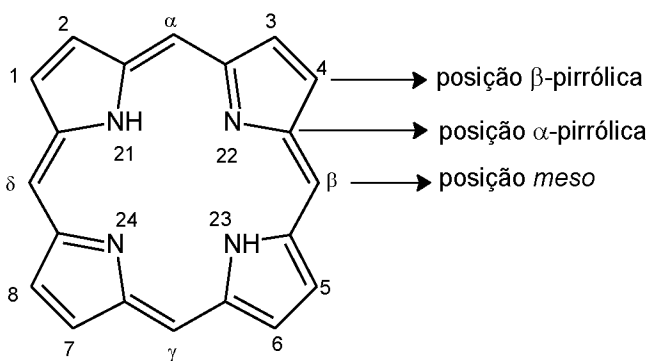
Figura 8: Porfina
 FONTE: MILGROM, 1997.

Existem duas maneiras aceitas para numerar o anel porfina. A FIGURA 9a apresenta a numeração sugerida pela IUPAC para uma nomenclatura sistemática (IUPAC, 1960) e a numeração sugerida por Fisher (MOSS, 1987). A nomenclatura de Fisher é muito utilizada para auxiliar a descrição de modificações químicas feitas no anel porfina.

Pela nomenclatura de Fisher, as posições 5, 10, 15 e 20 (FIGURA 9b), que correspondem aos carbonos metínicos, são denominadas de posições *meso*, e são representadas pelas letras gregas α , β , γ , δ . As posições 1, 4, 6, 9, 11, 14, 16, 19 são denominadas posições α -pirrólicas e as posições 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17, 18 são denominadas posições β -pirrólicas. Algumas simplificações para nomenclatura são muito utilizadas, como por exemplo, o prefixo “tetraquis” para porfirinas com quatro substituintes iguais nas posições *meso* (MILGROM, 1997).



(a)



(b)

Figura 9: Numeração do anel segundo a IUPAC (a) e segundo Fischer (b)
 FONTE: Traduzido e modificado de IUPAC 1960 e MILGROM, 1997.

3.4.2 Propriedades fotofísicas

As porfirinas apresentam propriedades fotofísicas distintas e já bem estabelecidas, como por exemplo, a região do Ultravioleta-visível a qual são capazes de absorver. Determinar os parâmetros de absorção no UV-visível, e o desvio deste parâmetro em condições previamente determinadas, vem sendo utilizado como um instrumento para estimar a potencialidade destes compostos como fotossensibilizadores. Por se tratar de ensaios simples e baratos, a determinação das características fotofísicas tornou-se bastante útil nos estágios iniciais do desenvolvimento de novos fotossensibilizadores, uma vez que é possível correlacionar estes parâmetros com os resultados de atividade biológica (*in vitro*) (GUO *et al.*, 2008; TAI, *et al.*, 2013).

O espectro na região do UV-visível de porfirinas é caracterizado pela presença de uma banda de alta intensidade, a cerca de 400 nm, denominada banda Soret e ainda outras de menor intensidade e em maiores comprimentos de onda, denominadas bandas Q (FIGURA 10). A banda Soret reflete a presença dos 18 elétrons π deslocalizados responsáveis pelo caráter aromático das porfirinas. As bandas Q são denominadas de IV, III, II, e I em comprimentos de onda crescentes. O número e intensidade relativa das bandas Q estão relacionados com os substituintes presentes nas posições *meso* e β -pirrólicas no macrociclo tetrapirrólico, ou, no caso de complexos, com estabilidade do íon metálico central (BONNET, 1995; MILGROM, 1997).

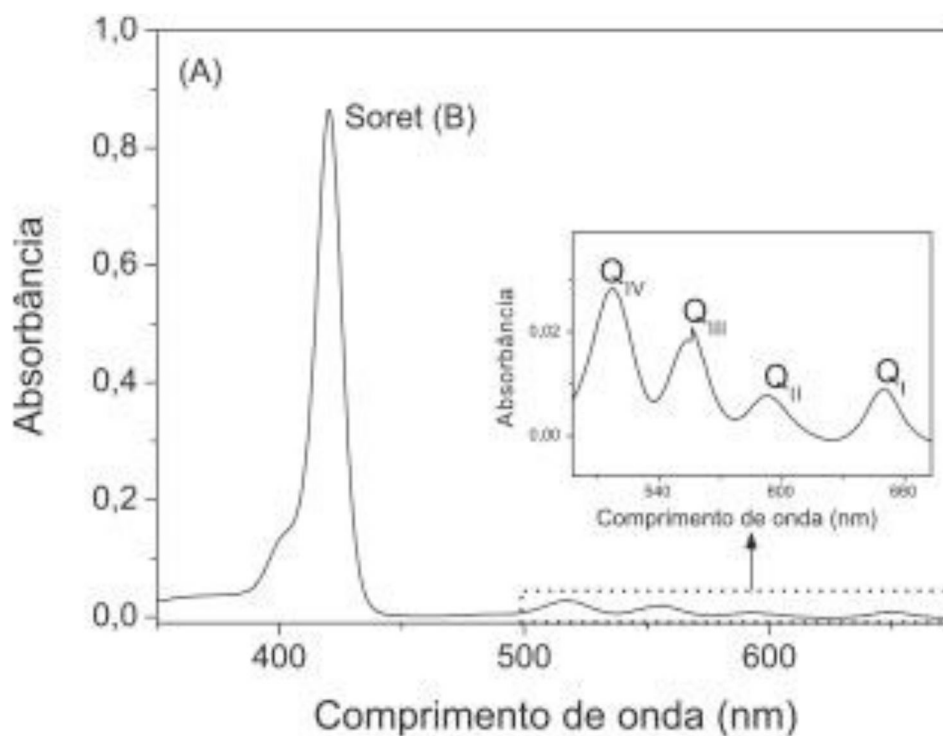


Figura 10: Perfil do espectro de absorção na região do UV-visível das porfirinas.
 FONTE: Traduzido e modificado de BONNET, 1995.

A FIGURA 11, exemplifica os diferentes espectros de absorção das bandas Q das porfirinas. O espectro de absorção das porfirinas que apresentam bandas que em ordem decrescente ($Q_{IV} > III > II > I$) é chamado de espectro do tipo *etio*. Este perfil de absorção é comum em porfirinas *meso*-substituídas. Quando substituintes são inseridos nas posições β -pirrólicas, diferentes padrões de intensidade das bandas Q são visualizados. Quando o espectro apresenta bandas $Q_{III} > IV > II > I$ é denominado do tipo *rhodo*, quando o perfil de intensidade é $III > II > IV > I$ é dito do tipo *oxo-rhodo* e quando apresenta um perfil no qual a intensidade segue a ordem $IV > II > III > I$ é dito, então, do tipo *phyllo*.

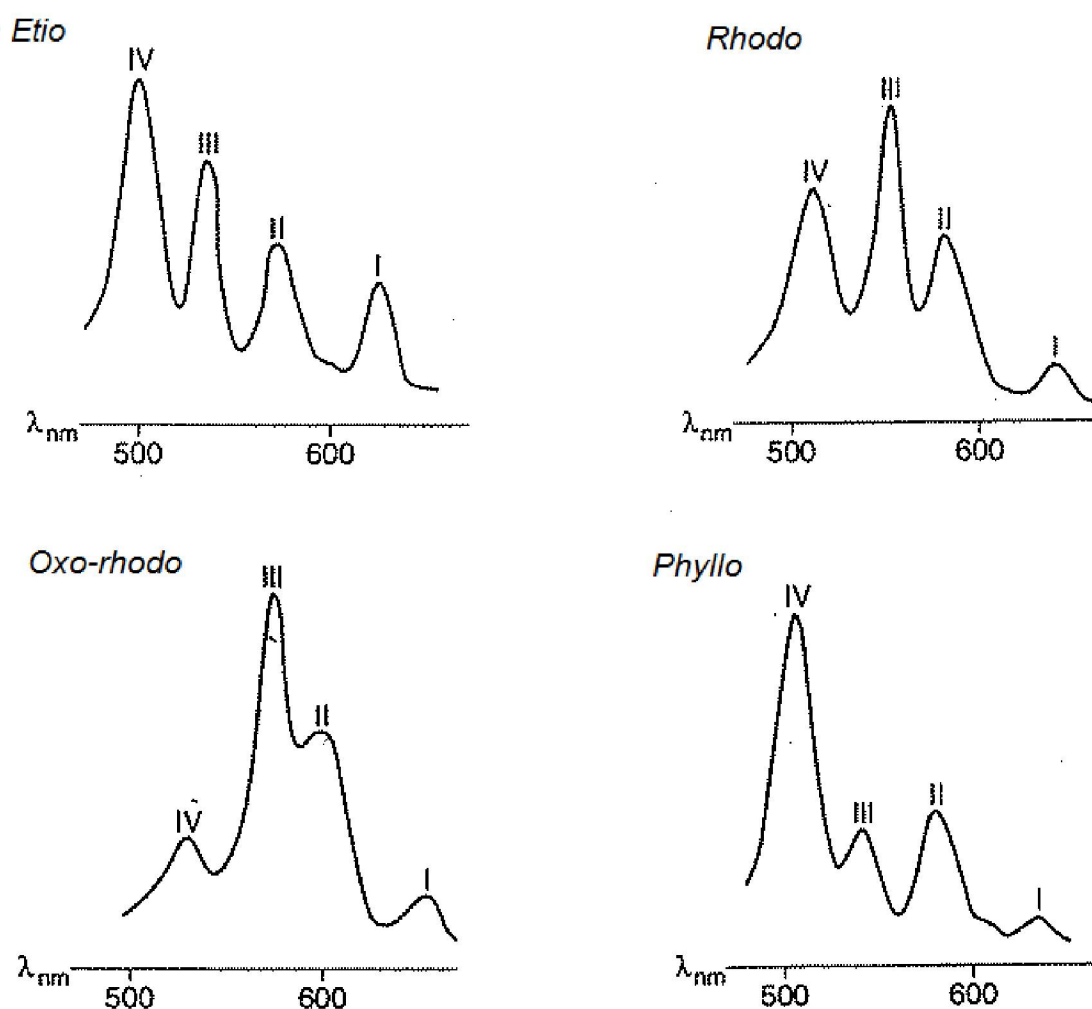
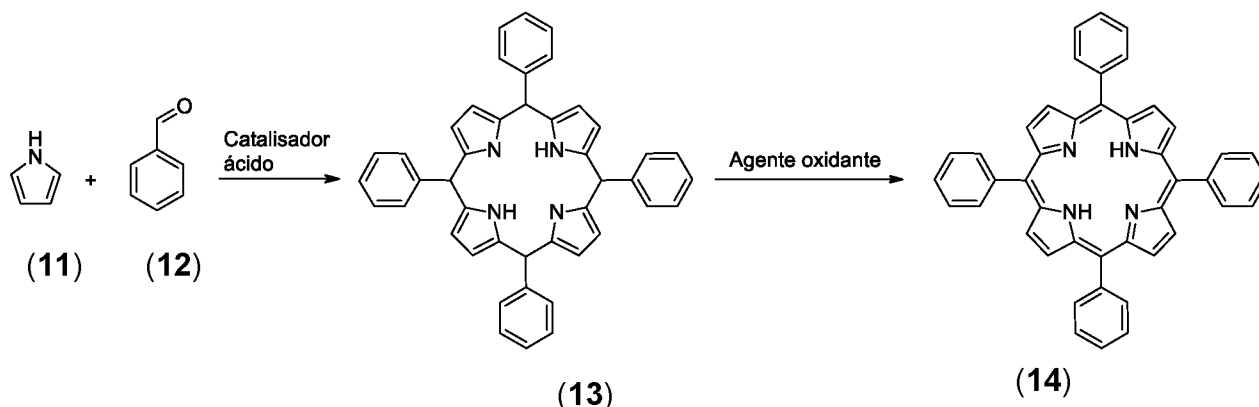


Figura 11: Perfil de intensidade das bandas Q de porfirinas.
 FONTE: MILGRON, 1997.

3.4.3 Metodologias de síntese de porfirinas *meso*-substituídas

As porfirinas sintéticas *meso*-substituídas são tradicionalmente sintetizadas pela condensação de 4 equivalentes de pirrol (**11**) com 4 equivalentes de um aldeído (como, por exemplo, o benzaldeído, **12**). Inicialmente ocorre a polimerização e ciclocondensação dos reagentes iniciais, por meio de uma catálise ácida, levando à formação de um intermediário – o hexa-hidroporfirina (porfirinogênio) (**13**). Com a adição de um agente oxidante ao meio, esse intermediário é então oxidado. Essa última etapa confere a aromaticidade ao macrociclo, como no exemplo abaixo - na *meso* terakisfenilporfirina (**14**) (TPP) (ESQUEMA 1) (LINDSEY *et al.*, 1987).



Esquema 1: Esquema geral de síntese da *meso* tetrakisfenilporfirina (TPP).

A primeira porfirina *meso* substituída sintetizada foi obtida por Rothemund na década de 30. A metodologia empregava acetaldeído e pirrol, tendo piridina ou metanol como solventes. Tal reação era conduzida a 150 °C por 24 h, sob pressão (ROTHEMUND, 1936). As desvantagens desse método eram as condições severas e o baixo rendimento da reação (cerca de 5%). Mais tarde, Adler e colaboradores modificaram a síntese de porfirinas passando a utilizar ácido propiônico como solvente, o que reduziu o tempo de reação para 30 min em refluxo atingindo rendimentos de cerca de 20% (ADLER *et al.*, 1967). Apesar de trazer algumas facilidades para purificação de porfirinas simétricas (feita por meio de técnicas de precipitação) este método apresentava uma baixa reprodutibilidade. Assim, 20 anos mais tarde, Lindsey, utilizando condições mais brandas e um ácido de Lewis como catalisador, conseguiu sintetizar porfirinas com rendimentos que variavam entre 30 e 40% (LINDSEY *et al.*, 1987).

Atualmente novos métodos têm sido desenvolvidos a fim de aperfeiçoar a síntese de porfirinas e obter melhores rendimentos. O emprego de micro-ondas para efetuar este tipo de síntese vem sendo eficientemente explorado. Neste caso, rendimentos de até 34% vem sendo obtidos para síntese da TPP (14), com uma redução no tempo de reação muito significativa (DE PAULA *et al.*, 2008). Outras estratégias para atingir esse objetivo envolvem a pesquisa de novos catalisadores e agentes oxidantes, eficientes e de baixo custo. Um trabalho recente baseou-se na utilização do trifluoreto de boro dietileterato (BF₃OEt₂) como catalisador e do dióxido de selênio (SeO₂) como agente oxidante. Tal estratégia foi capaz de obter 56% de rendimento na síntese da TPP (14) (LÓ *et al.*, 2011).

A relativa facilidade de síntese e a elevada versatilidade da sua estrutura molecular oferecem diversos modelos possíveis para porfirinas *meso*-substituídas (FIGURA 12), as porfirinas A_4 , A_3B , *cis* e *trans* A_2B_2 são facilmente obtidas pelas metodologias descritas acima, já as porfirinas *trans*- A_2BC e ABCD são comumente obtidas por meio da funcionalização de porfirinas A_4 (URBANI *et al.*, 2014).

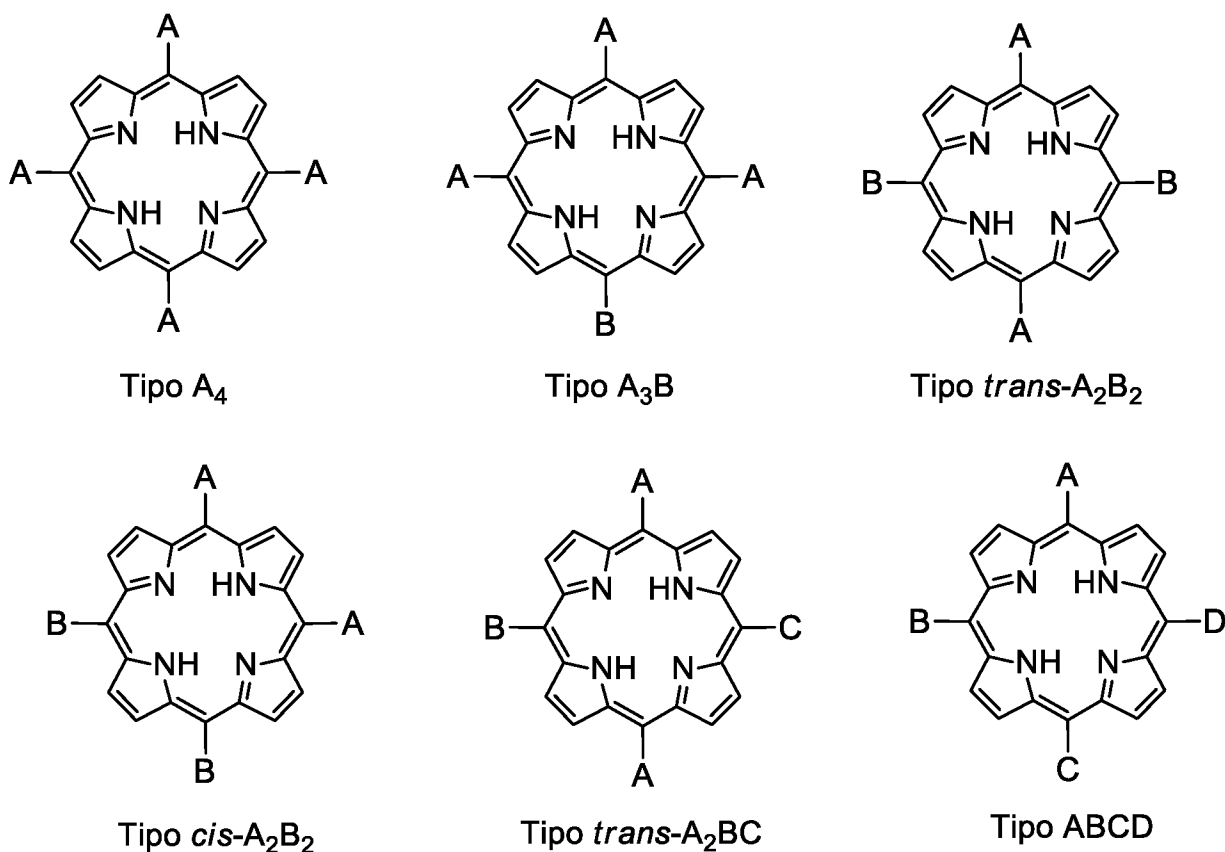


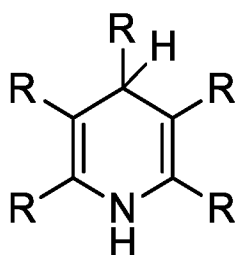
Figura 12: Diferentes tipos de porfirina conforme o substituinte na posição *meso* do anel porfirínico.

FONTE: Modificado de URBANI, *et al.*, 2014

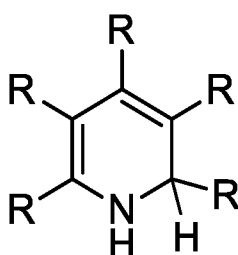
3.5 Di-HIDROPIRIDINAS

Di-hidropiridinas (DHPs) é uma classe de compostos constituída de pequenas moléculas orgânicas que possuem como característica química um anel di-hidropiridínico. A posição dos dois hidrogênio no anel di-hidropiridínico permite a denomina-las em: 1,4-DHPs (**15**), quando os hidrogênios estão na posição 1 e 4, 1,2-DHPs (**16**) quando os hidrogênios estão na posição 1 e 2, e por fim, 1,6-DHPs (**17**) quando os hidrogênios estão na posição 1 e 6 (FIGURA 13). Uma das suas

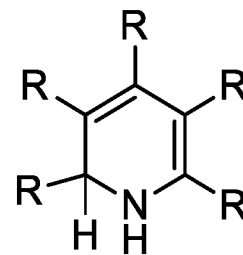
características mais importantes relaciona-se ao fato de que as seis posições do anel DHP são passíveis da presença de substituintes, possibilitando diversos derivados (EDRAKI *et al.*, 2009; KHEDKAR; AUTI, 2014).



(15)



(16)



(17)

Figura 13: Anéis di-hidropiridínicos.
FONTE: EDRAKI, *et al.*, 2009.

3.5.1 Propriedades específicas das di-hidropiridinas

Na década de 30, as di-hidropiridinas passaram a chamar atenção de químicos e bioquímicos. Isto se deve a descoberta do cofator enzimático NADH (18) (FIGURA 14). Por meio do anel DHP, presente no NADH, ocorrem diversos processos redutivos em vários organismos vivos (KHEDKAR; AUTI, 2014; NELSON; COX, 2013; SAINI; KUMAR; SANDHU, 2008), como por exemplo, no ciclo de Krebs (LEHNINGER, 2014).

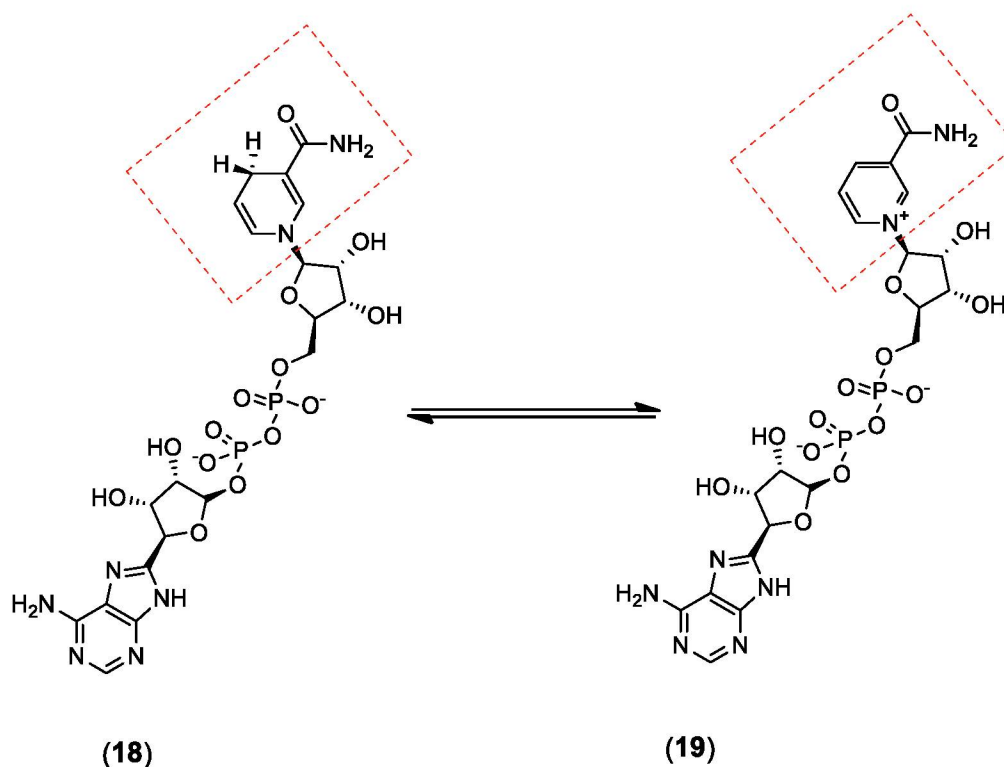


Figura 14: NADH **(18)** e NAD⁺ **(19)**
 FONTE: LEHNINGER, 2014

As primeiras atividades farmacológicas atreladas às DHPs foram analgésicas e antiespasmódicas (EISNER; KUTHAN, 1972). Na década de 70, a 1,4-dihidropiridina, denominado nifedipino **(20)** (FIGURA 15), passou a ser comercializada como vasodilatador, antagonista de canais de Ca²⁺, para o tratamento da hipertensão arterial associado ou não a insuficiência cardíaca e/ou infarto agudo do miocárdio.

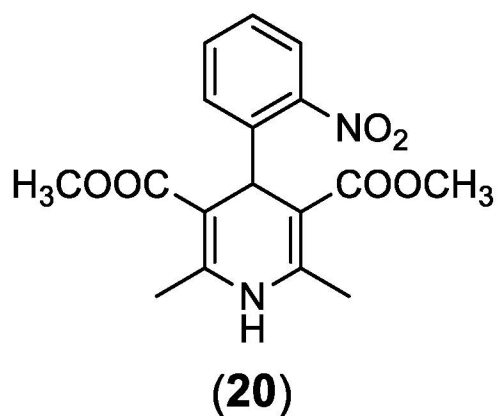


Figura 15: Nifedipino **(20)**.
 FONTE: LEMKE, WILLIAMS, 2008.

Ensaios clínicos com as di-hidropiridinas comerciais, tais como, tais como, felodipino (**21**), nivaldipino (**22**) e anlodipino (**23**) (FIGURA 16), demonstraram diferentes atividades farmacológicas, como por exemplo, atividade anticâncer, atividades antibacteriana, anticoagulante, leishmanicida, anticonvulsivante, anti-hipertensiva, antimicrobiana, anti-tuberculostática, antioxidante, antiarrítmica, antimalárica, neuroprotetora, entre outras (EDRAKI *et al.*, 2009; KHEDKAR; AUTI, 2014; SAINI; KUMAR; SANDHU, 2008).

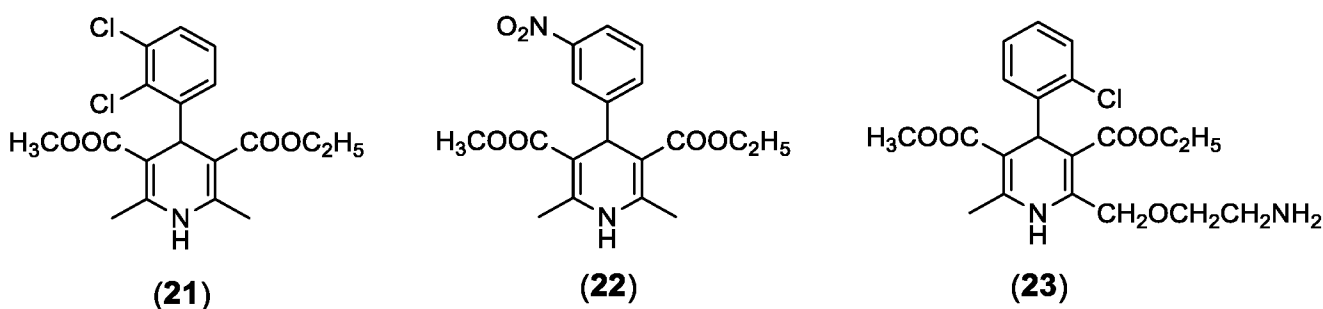


Figura 16: felodipino (21), nivaldipino (22) e anlodipino (23).
 FONTE: LEMKE, WILLIAMS, 2008.

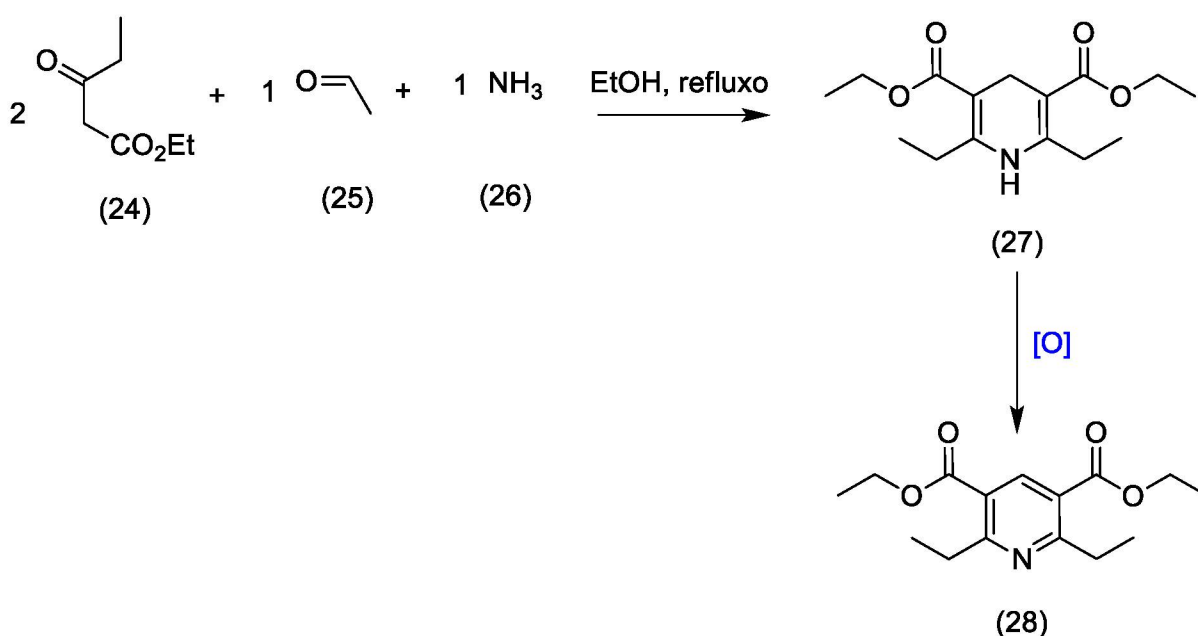
Segundo o Centro Internacional para Pesquisa do Câncer (IARC), subordinado à Organização Mundial da Saúde (OMS), no ano de 2018, foram diagnosticados 18,1 milhões de novos casos e 9,6 milhões de óbitos decorrentes de câncer. No artigo de revisão publicado em 2010 por Zarrin e Mehdipour (2010) há o relato de que parte significativa das mortes por câncer é devido à resistência intrínseca ou adquirida das células cancerígenas as drogas de ação citotóxica ou citostática comumente utilizadas na quimioterapia. Essa resistência é conhecida como Resistência a Múltiplas Drogas (RMD) (ZARRIN; MEHDIPOUR, 2010). Sabe-se, hoje, que o mecanismo atrelado ao RMD, é a presença de transportadores do tipo ABC, os quais são capazes de promover o efluxo dos quimioterápicos. Para contornar esses problemas, alguns fármacos foram testados a fim de reverter a RMD, por meio da inibição dos transportadores ABC, entre elas estão as 1,4-di-hidropiridinas antagonistas dos canais de cálcio. Estas promoveram uma reversão significativa na RMD, contudo os pacientes apresentavam efeitos adversos cardiovasculares fortes (ABEL *et al.*, 1995; TASAKJ *et al.*, 1995; TSURUO *et al.*, 1981, 1983). Diante disto, pesquisadores passaram a sintetizar derivados 1,4- di-hidropiridinas que promovessem a reversão da RMD e apresentassem o mínimo possível de efeitos adversos cardiovasculares.

3.5.2 Síntese das 1,4-di-hidropiridinas

3.5.2.1 Síntese clássica de Hantzsch

A reação de multicomponentes de Hantzsch é o método clássico de síntese de di-hidropiridinas (DHPs). Por definição, reações de multicomponentes (RMCs) são reações onde são adicionados, ao mesmo tempo e em um único frasco (*one-pot*), três ou mais reagentes, a fim de formar um novo composto. Este por sua vez deve incorporar grande parte do número de átomos do material inicial (SLOBBE; RUIJTER; ORRU, 2012).

Em 1882, Arthur Rudolf Hantzsch descobriu a síntese de DHPs ao misturar dois equivalentes de β -cetoéster (**24**), um equivalente de aldeído (**25**) e um equivalente de amônia (**26**). Ao refluxar a mistura em etanol por diversas horas, Hantzsch isolou 1,4-DHPs (**27**), que foram depois oxidadas aos seus respectivos derivados piridínicos (**28**) (ESQUEMA 2) (HANTZSCH, 1882).



Esquema 2: Síntese multicomponente de Hantzsch.
FONTE: JOULE, MILLS, 2013.

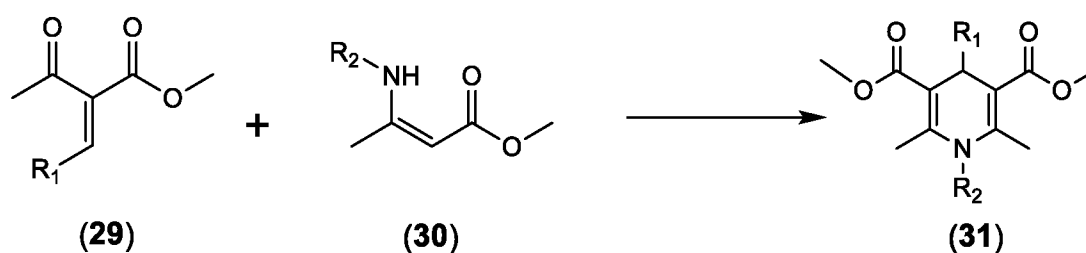
A reação clássica de Hantzsch, apesar de simples e de baixo custo, apresenta algumas desvantagens como: baixos rendimentos e formação de diversos subprodutos dificultando sua purificação. Contudo, ainda é a rota sintética de primeira escolha para síntese de 1,4-di-hidropiridinas (DUCATTI, 2009).

Até os dias atuais, pesquisadores vem melhorando o procedimento original de Hantzsch por meio do uso de diferentes catalisadores. Mithlesh *et al.* (2010) sintetizaram 1,4-di-hidropiridinas por meio da técnica de irradiação por micro-ondas, utilizando suportes de alumina ácida, sílica, alumina neutra e básica. Wang *et al.* (2005) utilizaram triflatos metálicos para síntese de Hantzsch a partir da dimedona, acetoacetato de etila, acetato de amônia e diferentes aldeídos.

Técnicas menos nocivas ao ambiente também vêm sendo empregadas na reação de Hantzsch, buscando usar organocatalisadores (DUCATTI *et al.*, 2009; KUMAR; MAURYA, 2007; RUEPING; DUFOUR; SCHOEPKE, 2011) ou meios reacionais livres de solventes (CHEN *et al.*, 2009; KUMAR *et al.*, 2008; MARTINEZ *et al.*, 2014).

3.5.2.2 Síntese via intermediários

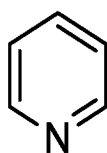
As di-hidropiridinas podem apresentar substituintes nas 6 posições do anel. Sintetizar di-hidropiridinas substituídas, na posição 4 ou nas posições 1 e 4, pelo método clássico de Hantzsch, revela desvantagens, como por exemplo, baixo rendimento e formação de inúmeros subprodutos. Por estas razões, quando o objetivo é sintetizar di-hidropiridinas substituídas (**31**), a utilização da rota sintética envolvendo a formação prévia de dois intermediários – enaminona (**30**) e beta-cetoéster – leva a melhores resultados (**29**) (ESQUEMA 3) (CHEKAVICHUS *et al.*, 1997; DONDONI; MASSI; MINGHINI, 2002; DONDONI *et al.*, 2002; DUCATTI *et al.*, 2009; FELICIANO *et al.*, 1992; STOUT; MEYERS, 1982). Alternativamente, pode-se utilizar da formação prévia de somente um dos intermediários (MIAO *et al.*, 2013; PRASANTHI; PRASAD; BHARATHI, 2013; SAINI; KUMAR; SANDHU, 2008).



Esquema 3: Síntese via intermediários beta-cetoéster e enaminona.
 FONTE: JOULE, MILLS, 2013.

3.6 PIRIDINAS

A piridina (**32**) (FIGURA 17) é um composto orgânico heterocíclico com a fórmula química C_5H_5N . Estruturalmente, ela é relacionada com o benzeno. A diferença entre a piridina e o benzeno é a substituição de um dos grupos CH do anel benzênico por um átomo de nitrogênio (CHAUBEY; PANDEYA, 2011). O anel piridínico pode apresentar diferentes substituintes nas suas posições 2–6.



(32)

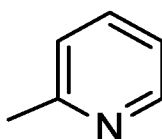
Figura 17: Estrutura química da piridina (**32**).

FONTE: CHAUBEY; PANDEYA, 2011.

Piridinas são moléculas básicas, cujo o ácido conjugado apresenta pK_{aH} de aproximadamente 5. Isto se deve ao fato de os pares de elétrons do nitrogênio não participarem do fenômeno de ressonância (SLOMP, 2012).

3.6.1 Propriedades específicas das piridinas

O nome piridina originou-se da palavra grega “PYR” que significa fogo e “idine”, sufixo usado para todas as bases aromáticas, relatando sua origem (HENRY, 2004). A primeira piridina foi isolada de um óleo, obtido pela pirólise de ossos, sendo caracterizada por Anderson em 1846. Esta foi denominada picolina (**33**) (FIGURA 18). Contudo, não se tinha a estrutura química correta das piridinas. Apenas em 1869 Korner e Dewar reconheceram a natureza cíclica desta molécula (HENRY, 2004).



(33)

Figura 18: Estrutura química da Picolina (**33**).

FONTE: HENRY, 2004.

Em 1875, Ramsay iniciou o desenvolvimento de algumas rotas sintéticas, mas foi só em 1930 que as piridinas ganharam destaque com a descoberta da vitamina niacina (**34**) para prevenção da dermatite e demência. Além da vitamina niacina, a vitamina piridoxina (**35**) (vitamina B6) apresenta uma grande importância para os sistemas biológicos (FIGURA 19). Esta atua como um co-fator enzimático nos processos metabólicos, em ambos os casos o anel piridínico faz parte da estrutura química destas substâncias (CHAUBEY; PANDEYA, 2011; HENRY, 2004).

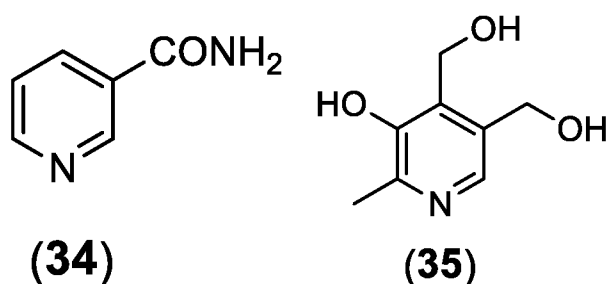


Figura 19: Estruturas químicas da Niacina (**34**) e Piridoxina (**35**).
 FONTE: BEALE JUNIOR, BLOCK, 2011.

Na área de produtos naturais, muitos alcaloides apresentam em sua estrutura um anel piridínico, podendo-se citar a nicotina (**36**). Na indústria farmacêutica, cerca de 7000 medicamentos existentes apresentam um anel piridínico em suas estruturas (FIGURA 20). Pode-se citar a isoniazida (**37**), (aplicada no tratamento da tuberculose) e a sulfapiridina (**38**) (utilizada como antibacteriano) e o inibidor da Topoisomerase I e II (**39**) (utilizado como antineoplásico) (HENRY, 2004; ALTAF, *et al.*, 2015).

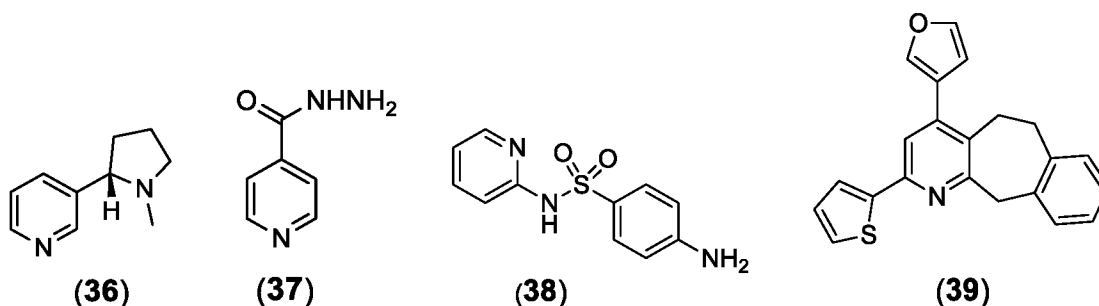


Figura 20: Estruturas químicas da Nicotina (**36**), Isoniazida (**37**), Sulfapiridina (**38**) e Inibidor da Topoisomerase I e II (**39**).
 FONTE: BEALE JUNIOR, BLOCK, 2011; HENRY, 2004 e ALTAF, *et al.*, 2015.

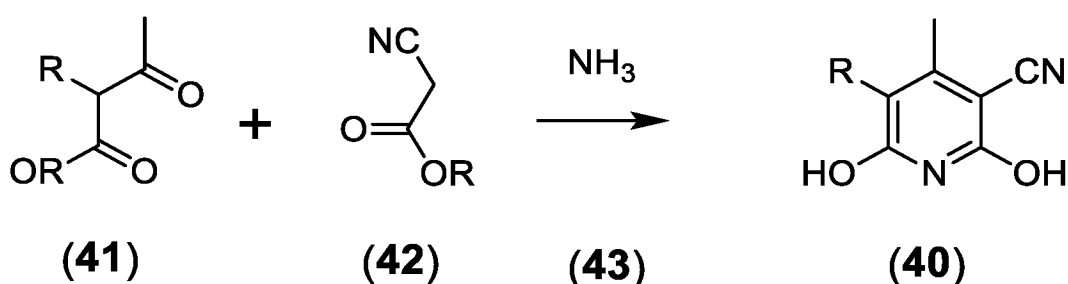
3.6.2 Síntese de piridinas

3.6.2.1 Reações de condensação

O método clássico de obtenção de piridinas é por meio da oxidação de 1,4-dihidropiridinas obtidas por meio da síntese clássica de Hantzsch, a qual está descrita na seção 3.4.2.1.

Outros pesquisadores dispenderam tempo e esforços para obtenção das piridinas por meio de outros sistemas reacionais. Contudo, todos foram consideradas variações desta síntese clássica de Hantzsch, pois envolviam a condensação de compostos para obtenção das piridinas (LI, 2005).

Na síntese de Guareschi-Thorpe, os procedimentos utilizados estão intimamente relacionados com a síntese de Hantzsch. A única diferença é a utilização de ésteres do ácido cianoacético. Estas piridinas (**40**) são construídas a partir da reação de ésteres do ácido acetoacético (**41**) com ésteres do ácido cianoacético (**42**) na presença de amônia (**43**) (ESQUEMA 4) (BARON, REMFRY, THORPE, 1904; HOLLINS, 1924; LI, 2005).



Esquema 4: Síntese de Guareschi-Thorpe.

FONTE: HOLLINS, 1924.

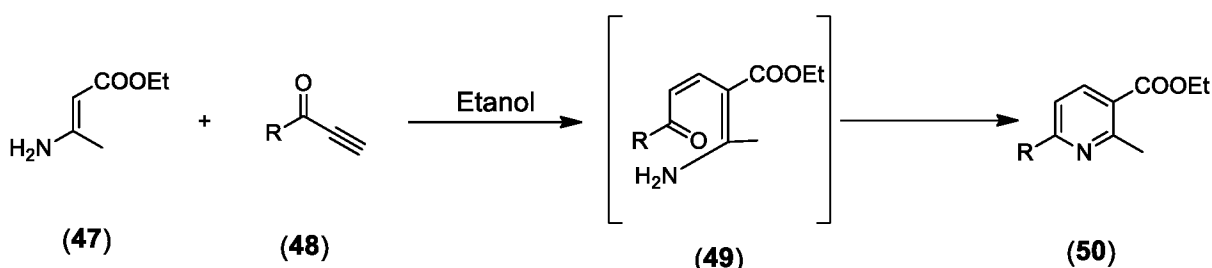
Em 1905 foi desenvolvida a síntese de piridinas de Chichibabin, a qual ocorre através da passagem de vapores de aldeídos alifáticos (**44**) e amônia (**45**) sobre a alumina a 300-400 °C, obtendo, então, uma piridina 2,3,5-trissubstituída (**46**) (ESQUEMA 5) (SPRUNG, 1940; LI, 2005; POZHARSKII; SIMONOV; DORON'KIN, 2007).



Esquema 5: Síntese de Chichibabin.

FONTE: SPRUNG, 1940

A síntese de Bohmann-Rahtz permite obter piridinas substituídas com apenas dois passos reacionais, utilizando etanol como solvente. O primeiro passo consiste na reação de uma enaminona (**47**) com uma etenilcetona (**48**) formando o intermediário aminodieno (**49**). O segundo passo se dá pelo aumento da temperatura, que leva a ciclodesidratação do intermediário aminodieno, formando a piridina (**50**) (ESQUEMA 6) (LI, 2005).

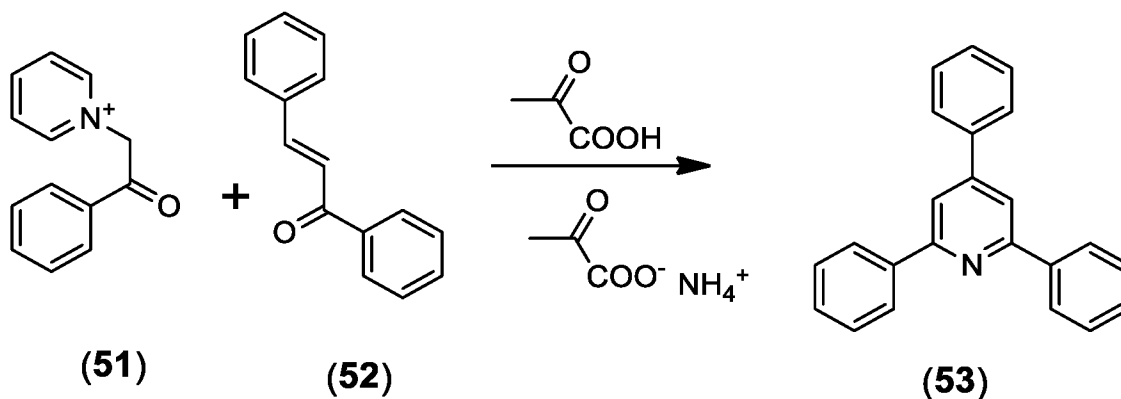


Esquema 6: Síntese de Bohmann-Rahtz

FONTE: LI, 2005.

Em 2001, Bagley, Dale e Bower, utilizando como base a síntese de Bohmann-Rahtz, demonstraram que ao realizar catálise ácida direcionada ao intermediário aminodieno era possível promover a ciclodesidratação à temperaturas brandas. Demonstraram também que além do etanol, o sulfóxido de dimetila (DMSO) funcionava como excelente solvente permitindo com que a reação também ocorresse espontaneamente (BAGLEY; LUNN; XIONG, 2002). Outra descoberta feita por Bagley e colaboradores (2004), foi a geração de enaminonas *in situ*, resolvendo o problema de escassez de enaminonas disponíveis no mercado.

A síntese de Kröhnke utiliza o princípio da adição de Michael, a qual é uma reação muito conhecida para formação de ligações carbono-carbono (MATTOS; MARZORATI, 1999). Kröhnke substituiu as dicarbonilas utilizadas por Hantzsch por sais de fenilacilpiridínios (**51**) e os reagiram com a benzilacetofbeta-cetoéster (**52**), em um meio reacional contendo ácido acético e acetato de amônia e obteve a trifenilpiridina (**53**) (ESQUEMA 7) (KRÖHNKE, *et al.*, 1962; LI, 2005).

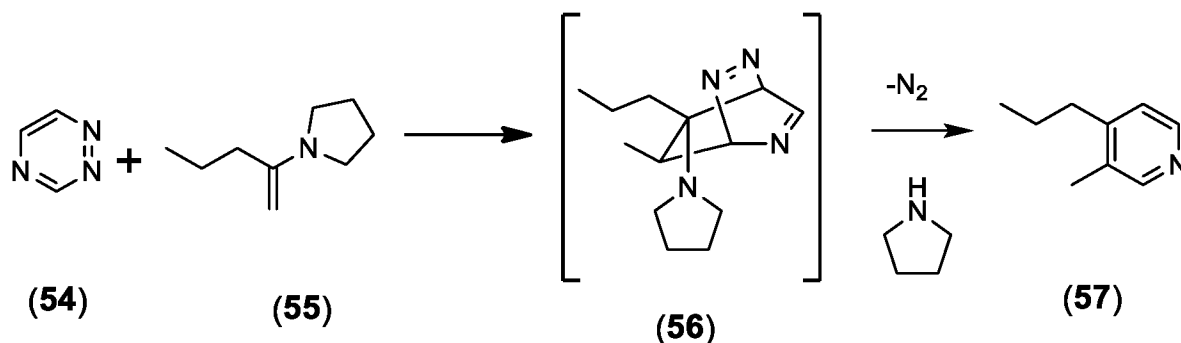


Esquema 7: Síntese de Kröhnke.
 FONTE: KRÖHNKE, *et al.*, 1962

3.6.2.2 Reações de cicloadição

Reações de cicloadição permitem sintetizar piridinas em uma única etapa. Este método é considerado eficiente, econômico e garante o controle das cinco posições do anel piridínico, permitindo a preparação de sistemas altamente substituídos. A reação de Boger é a rota sintética mais empregada nas cicloadições e a partir dela nasceram todas as suas variações (LI, 2005; JOULE, MILLS, 2013).

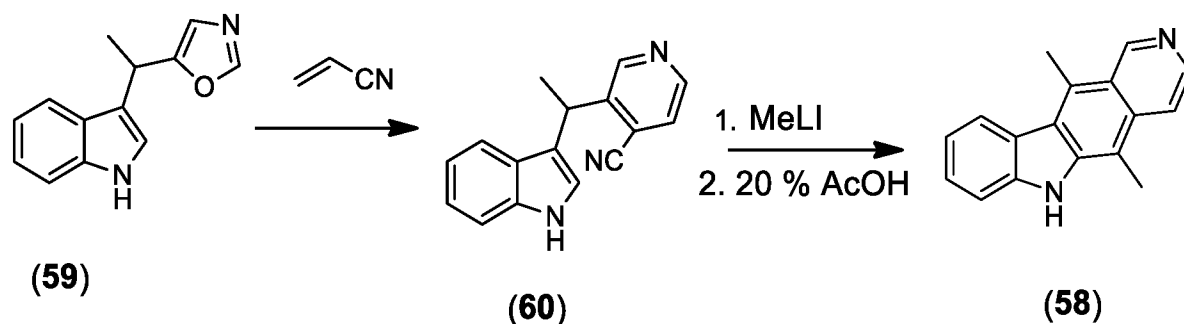
A síntese de Boger envolve a reação da triazina (**54**) com um alceno (**55**) ativado na forma de hetero-Diels-Alder, sob temperatura, formando um intermediário bicyclico (**56**) instável. Este intermediário, ao perder pirrolodina e nitrogênio na forma de gás, gera uma piridina substituída (**57**) (ESQUEMA 8) (BOGER, 1983; BOGER, 1986; LI, 2005).



Esquema 8: Síntese de Boger.
 FONTE: BOGER, 1986.

Kondrat'eva na busca do desenvolvimento do antitumoral elipticina (**58**), aplicou o conceito da síntese de Boger utilizando um oxazol (**59**) para gerar a piridina (**60**). Ao

adicionar metil lítio de depois ácido acético, transformou a piridina (**60**) na elipticina (**58**) (ESQUEMA 9) (KOZIKOWSKI, HASAN, 1977; LI, 2005).

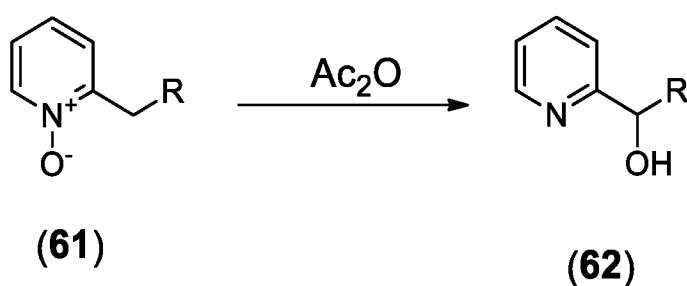


Esquema 9: Síntese do antitumoral elipticina (**58**).
FONTE: KOZIKOWSKI, HASAN, 1977.

3.6.2.3 Reações de rearranjo

A síntese de Boekelheide e a síntese de Ciamician-Dennstedt são as rotas sintéticas por meio de reações de rearranjo para a obtenção de piridinas (JOULE, MILLS, 2013).

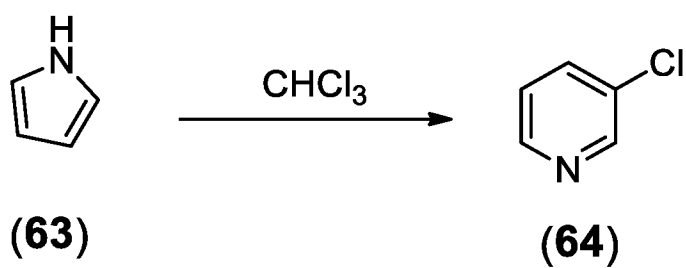
A síntese de Boekelheide envolve o rearranjo de uma piridina existente, transformando-a em uma molécula mais funcionalizada. Boekelheide tratou uma *N*-oxopiridina (**61**) com agentes de acilação obtendo uma piridina rearranjada (**62**) (ESQUEMA 10). Este tipo de rearranjo ocorre tradicionalmente na posição α do anel piridínico, mas existem casos que é possível ocorrer a modificação na posição β , em relação ao heteroátomo (KATRITZKI, LAM, 1992; LI, 2005).



Esquema 10: Síntese de Boekelheide.
FONTE: KATRITZKI, LAM, 1992.

A síntese de Ciamician-Dennstedt envolve a formação de um núcleo piridínico por meio de um heterocíclico alternativo. Ciamician-Dennstedt reagiu um anel pirrólico

(**63**) com um hidrocarboneto clorado formando um núcleo piridínico (**64**) com um cloro na posição 3 do anel (ESQUEMA 11) (CIAMICIAN, DENNSTEDT, 1881; LI, 2005).



Esquema 11: Síntese de Ciamician-Dennstedt.
FONTE: LI, 2005.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais e métodos desta tese encontra-se dividido em quatro partes. A primeira parte traz os métodos gerais utilizados neste trabalho, e as três outras, a exemplo da discussão dos resultados, descreve a síntese dos intermediários-chave, síntese dos híbridos porfirínicos com 1,4-di-hidropiridinas e síntese dos híbridos porfirínicos com piridinas.

4.1 MÉTODOS GERAIS

Esta parte da tese trata dos métodos de purificação, caracterização química e ensaios fotofísicos utilizados.

4.1.1 Purificação

4.1.1.1 Cromatografia em coluna de sílica

Foi empregada a técnica de cromatografia em coluna de sílica gel para purificação dos compostos **1–6** e **8**. A cromatografia em coluna foi realizada utilizando sílica gel 60 (220–240 mesh) com misturas de solventes variados, medidos na base v/v, como fase móvel. A quantidade de sílica e as dimensões da coluna foram selecionadas de acordo com as quantidades descrita por Stil e colaboradores (1978).

4.1.1.2 Cromatografia em camada delgada

Cromatofolhas para cromatografia em camada delgada, de sílicagel 60 da marca MERCK, foram utilizadas para controle das reações de síntese e monitoramento das frações geradas na cromatografia em coluna. As cromatofolhas foram eluídas com diferentes misturas de solventes, de acordo com as características de cada composto. Para detecção dos compostos **7** e **8** foi realizada por meio dos reveladores ninhidina e resorcionol, respectivamente.

4.1.1.3 Precipitação

A precipitação foi a metodologia de purificação utilizada para obtenção do composto **7**. Esta técnica permite a separação de compostos que apresentam solubilidade variável em um determinado solvente ou mistura de solvente, dependendo da temperatura empregada.

4.1.2. Caracterização química

4.1.2.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram obtidos com o espectrômetro Bruker AVANCE 400 (Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular-UFPR) e Bruker AVANCE 200 (Departamento de Química-UFPR), operando na frequência de base 400,5 MHz e 200,12 MHz, respectivamente, para obtenção dos espectros de ^1H . Para obtenção dos espectros de ^{13}C a frequência base utilizada foi 100,62 MHz e 50,32 MHz, respectivamente.

As amostras foram solubilizadas em solventes deuterados e colocadas em tubos de 5 mm de diâmetro para análise a temperatura de 30 °C.

Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm e foram determinados de acordo com o padrão interno tetrametilsilano (TMS) presente no solvente deuterado no qual a amostra foi solubilizada. Nos casos em que o solvente deuterado não continha tetrametilsilano como padrão interno, foi utilizando o pico do solvente como padrão interno. Os sinais foram descritos como simpleto (s), duplete (d), duplo duplete (dd), tripleto (t), multiplete (m) e simpleto alargado (sl).

Os espectros foram processados e analisados com o auxílio do programa TOPSPIN.

4.1.2.2 Espectrometria de Massas

Os espectros de massas foram obtidos no espectrômetro Bruker MicroTOF-Q II XL (Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular-UFPR), sendo a fonte de ionização eletrospray. O espectrômetro foi operando no modo positivo com as

amostras na concentração de 100 ng.mL⁻¹ em acetonitrila e água (80:2). A calibração do instrumento foi realizada com solução de formiato de sódio.

4.1.2.3 Espectrometria na região do Infravermelho

Os espectros no Infravermelho foram obtidos no espectrofotômetro Bruker FT-IR ALPHA (Departamento de Farmácia - UFPR). Os resultados obtidos foram expressos em número de onda (cm⁻¹), de acordo com a posição das bandas de absorção observadas.

Para realização das análises, as amostras utilizadas encontravam-se em estado sólido pulverizado, com o aparelho operando em reflectância atenuada (ATR).

4.1.3 Ensaio fotofísicos

4.1.3.1 Varredura no Ultravioleta-visível

Os espectros de UV-visível foram obtidos no espectrofotômetro Shimadzu UV-1800 no modo varredura (Departamento de Farmácia -UFPR), operando na faixa de 200–800 nm. Para realização das análises, foram preparadas soluções estoque das amostras na concentração de 1 mmol.L⁻¹ em sulfóxido de dimetila (DMSO). O espectrofotômetro foi previamente zerado apenas com DMSO. Para cada composto foi preparada uma cubeta com 2 mL de DMSO e 12 µL da solução estoque, atingindo uma concentração final de 12 µmol.L⁻¹. As amostras foram analisadas no modo varredura na faixa de 380–800 nm para os compostos **1–6**, e na faixa de 200–800 nm para os compostos **7** e **8**. Os resultados foram expressos em termos de absorvidade molar (ϵ) dos compostos analisados segundo a seguinte equação:

$$A = \epsilon \cdot c \cdot l$$

Onde A é a absorbância em determinado comprimento de onda, c é a concentração da amostra em mol.L⁻¹ e l é o caminho óptico percorrido pela luz em cm.

4.1.3.2 Estudo de estabilidade

Para realização dos estudos de estabilidade foram preparadas solução estoque dos compostos **1–6**, na concentração de 1 mmol.L⁻¹ em DMSO. Foi avaliado a estabilidade dos compostos na ausência e presença da luz.

Na determinação da estabilidade no escuro, os experimentos foram realizados em uma sala escura, e para cada composto foi preparada uma solução, em cubeta de quartzo, contendo 2 mL de água destilada e 10 µL da solução estoque, atingindo uma concentração de 20 µmol.L⁻¹. Cada solução foi submetida à agitação por 30 minutos. A cada minuto a solução, em cubeta de quartzo, foi analisada no espectrofotômetro de Shimadzu 1800 UV (Departamento de Farmácia – UFPR) na faixa de 300 nm à 500 nm, a fim de avaliar os valores de absorbância da banda Soret nos diferentes tempos. Cada composto foi analisado em triplicata. A interpretação dos dados foi realizada com auxílio do programa UV Probe 2.3 e o tratamento estatístico foi realizado com o auxílio do programa Microsoft Excel.

Na determinação da fotoestabilidade, para cada composto foi preparada uma solução, em cubeta de quartzo, contendo 2 mL de água destilada e 10 µL da solução estoque, atingindo uma concentração de 20 µmol.L⁻¹. Cada solução foi submetida à agitação por 30 min e irradiação de 100 mW/cm² (92 mm) usando fonte de luz Lumacare LC122A (lâmpada de halogênio 250 W). A cada minuto a solução, em cubeta de quartzo, foi analisada no espectrofotômetro de Shimadzu 1800 UV (Departamento de Farmácia – UFPR) na faixa de 300 nm à 500 nm, a fim de avaliar os valores de absorbância da banda Soret nos diferentes tempos. Cada composto foi analisado em triplicata. A interpretação dos dados foi realizada com auxílio do programa UV Probe 2.3 e o tratamento estatístico foi realizado com o auxílio do Microsoft Excel.

4.1.3.3 Estudo da geração de oxigênio singlete.

A produção de oxigênio singlete foi estimada pelo método indireto descrito por Roitman e colaboradores (1994). Foram preparadas soluções estoque dos compostos **1–6** e do fotossensibilizador padrão, azul de metileno, nas concentração de

0,1 mmol.L⁻¹ em *N,N*-dimetilformamida (DMF), e do reagente 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF) na concentração de 1 mmol.L⁻¹ em DMF.

Para cada composto foi preparada, em cubeta de quartzo, uma solução contendo: 2 mL de água destilada, 100 µL da solução do reagente DPBF e 10 µL do composto em análise, atingindo as concentrações 50 µmol.L⁻¹ e 0,5 µmol.L⁻¹, respectivamente. Cada composto, nas concentrações descritas acima, foi submetido a agitação e irradiação de 9,0 mW/cm² (243 nm) com a fonte de luz Lumacare LC 122A (lâmpada de halogênio 250 W), usando um filtro amarelo (550-800 nm), por 15 min. O filtro amarelo impede a degradação do reagente DPBF pela luz. O mesmo procedimento foi realizado para o fotossensibilizador padrão, o azul de metileno.

A cada minuto o composto foi analisado no espectrofotômetro de Shimadzu 1800 UV (Departamento de Farmácia – UFPR) em 415 nm, a fim de avaliar a intensidade da banda de absorção do reagente DPBF, o qual absorve luz em 415 nm. Quando um fotossensibilizador, na presença da luz e do oxigênio atmosférico, produz oxigênio singleto, este reage com o reagente DPBF formando um produto que não apresenta absorção em 415 nm. Logo quanto maior for a produção de oxigênio singleto pelo fotossensibilizador, maior será o decaimento da intensidade de absorção do reagente DPBF em 415 nm.

Os valores de absorbância foram medidos em três experimentos independentes e os resultados foram expressos em porcentagem com o desvio padrão correspondente. Os rendimentos quânticos de oxigênio singleto foram obtidos a partir da EQUAÇÃO 1. Foram utilizados apenas os primeiros oito minutos do experimento, os quais corresponderam ao intervalo de tempo que apresentou uma relação linear com o logaritmo natural (ln) da absorbância da DPBF.

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta}^{\text{Padrão}} \frac{R \cdot I_{\text{abs}}^{\text{Padrão}}}{R^{\text{Padrão}} \cdot I_{\text{abs}}}$$

Equação 1: Equação para cálculo de rendimento quântico de oxigênio singleto.

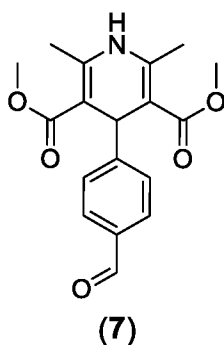
Nesta equação Φ_{Δ} representa o rendimento quântico das porfirinas e $\Phi_{\Delta}^{\text{Padrão}}$ representa o rendimento quântico do padrão (para o azul de metileno $\Phi_{\Delta}^{\text{Padrão}}=0,52$). R e $R^{\text{Padrão}}$ são os coeficientes angulares do consumo do DPBF na presença das porfirinas e do azul de metileno. Uma vez que a reação é de primeira ordem, estes

parâmetros podem ser obtidos do gráfico que apresenta o logaritmo natural (\ln) da absorbância do DPBF versus o tempo de irradiação. I_{abs} e $I_{\text{abs}}^{\text{Padrão}}$ são as constantes de absorção luminosa para a amostra e para o azul de metileno, respectivamente.

4.2 SÍNTESE DOS INTERMEDIÁRIOS-CHAVE ALDEÍDO-1,4-DI-HIDROPIRIDINA (7) E MESO-1,4-DI-HIDROPIRIDINA DIPIRROMETANO.

A síntese e os dados de caracterização do aldeído-1,4-di-hidropiridina (7), de nome sistemático 4-(*p*-formilfenil)-2,6-dimetil-1,4-di-hidropiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila, e do *meso*-1,4-di-hidropiridina dipirrometano (8), de nome sistemático 4- {*p*-[bis (1*h*-pirrol-2-il) metil] fenil} -2,6-dimetil-1,4-di- hidropiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila, são descritos em detalhes nessa seção. Estes dois compostos foram denominados como intermediários-chave, pois a partir desses compostos foram sintetizados os híbridos porfirínicos.

4.2.1 Síntese do aldeído-1,4-di-hidropiridina (7)



Em um balão de fundo redondo foi adicionado 1,6 mL de acetoacetato de metila (1,73 g; 15 mmol), 1 g de tereftaldeído (7,45 mmol), 1 g de acetato de amônio (11 mmol) e 10 mL de água destilada. A mistura foi submetida a refluxo por 24 h. Ao término das 24 h de refluxo, o balão, contendo a mistura, foi resfriado com gelo até atingir temperatura ambiente. Ao balão, à temperatura ambiente, foi adicionado 10 mL de acetato de etila e submetido a agitação até completa solubilização do produto formado. A mistura foi transferida para um funil de separação e submetida a extração com água/acetato de etila (1:1) por 3 vezes. A fase orgânica foi recolhida em erlenmeyer e, então, foi realizada a filtração em funil simples contendo sulfato de sódio

anidro para remoção da água residual. O filtrado foi recolhido em um becker e transferido para um balão de fundo redondo. O solvente do filtrado foi rotaevaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi solubilizado com 5 mL de ciclohexano quente. Após resfriamento da mistura, foi adicionado 5 mL de éter etílico gelado. Imediatamente, foi possível visualizar a formação de um precipitado amarelo. O balão foi armazenado na geladeira por 24 h para completa precipitação. O precipitado foi filtrado sob vácuo em funil de placa porosa contendo papel de filtro e submetido a secagem à temperatura ambiente. O produto foi pesado e armazenado em vidro de penicilina. Foi obtido, a partir dessa reação, 1,2 g do aldeído-1,4-di-hidropiridina, com rendimento de 50%.

Nome IUPAC: 4-(*p*-formilfenil)-2,6-dimetil-1,4-di-hidropiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila.

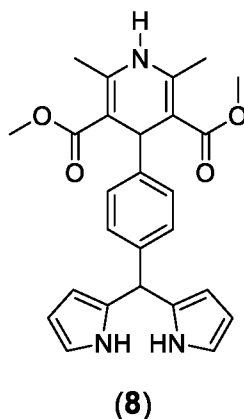
Massa molecular : m/z calculado para $[M + H]$ 330,1355; encontrado: 330,1358.

RMN de 1H : (400 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm) : 9,93 (s, 1H, \underline{CHO}), 8,99 (s, 1H, \underline{NH}), 7,80 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H, fenil), 7,40 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H, fenil), 5,01 (s, 1H, H4), 3,58 (s, 6H, $\underline{COCH_3}$), 2,31 (s, 6H, $\underline{CH_3}$).

RMN de ^{13}C : (101 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 193,20 ppm (1C, \underline{CHO}), 168,08 ppm (2C, $\underline{COOCH_3}$), 147,4 ppm (2C, C2'/C6'), 129,28 ppm; 128,49 ppm; 128,03 ppm; 127,64 ppm; 126,20 ppm (5C, aromáticos), 103,96 ppm (2C, C3'/C5'), 50,96 ppm (2C, $\underline{COCH_3}$) 39,33 ppm (1C, C4') 19,57 (2C, $\underline{CH_3}$).

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3358 cm^{-1} (estiramento, N-H); 2951 cm^{-1} (estiramento, C-H do C4); 2850 cm^{-1} (estiramento, C=O, CHO) 1693 cm^{-1} (estiramento $\underline{C=O}$, $\underline{COOCH_3}$).

4.2.2 Síntese do *meso*-1,4-di-hidropiridina dipirrometano (**8**)



Em um balão de fundo redondo de 50 mL foi adicionado 1 g do composto **7** (3,3 mmol) e 2 mL de pirrol (2 g, 26,4 mmol). Em um Becker de 2 mL foi adicionado 1 mL de acetato de etila e 25 μ L de ácido trifluoroacético (TFA) (37 mg, 0,3 mmol). A mistura contendo o composto **7** e o pirrol foi submetida a vigorosa agitação, e com auxílio de uma pipeta Pauster foi adicionado gota-a-gota a mistura de TFA e acetato de etila. A mistura foi agitada por duas horas à temperatura ambiente. Após duas horas de agitação, foi adicionado 0,5 mL de trietilamina a fim de atingir um pH básico no meio reacional. O excesso de pirrol e o acetato de etila foram retirados por rotaevaporação sob baixa pressão, obtendo-se um resíduo amarelo escuro. O resíduo foi submetido a purificação em cromatografia de coluna com sílica gel utilizando ciclohexano/acetato de etila (3:1) como fase móvel. Com auxílio de cromatofolhas de sílica gel, a purificação foi monitorada. A quarta banda eluída correspondia ao produto desejado. O produto recolhido nos tubos de ensaio foi transferido para um balão de fundo redondo e a fase móvel foi evaporado por rotaevaporação sob pressão reduzida. O produto possui o aspecto de óleo amarelo, sendo obtido 1,2 mmol (0,6 g), o que corresponde a 40 % de rendimento.

Nome IUPAC: 4- {p- [bis (1h-pirrol-2-il) metil] fenil} -2,6-dimetil-1,4-di- hidropiridina-3,5-dicarboxilato de dimetila.

Massa molecular em alta resolução: m/z calculado para $[M + Na]^+$: 468,1833; encontrado: 468,1836.

RMN de 1H : (400 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm) : 10,50 (sl, 2H, N-H,pirrólico), 8,86 (s, 1H, N1-H), 7,00-7,08 (m, 4H, aromático), 6,61 (dd, 2H, C2-H, $J=5,5$ Hz), 5,91 (b, 2H, C3-

H), 5,29 (s, 1H, C5-H), 4,89 (s, 1H, C4'-H), 3,58 (s, 6H, COOCH₃), 2,28 (s, 6H, CH₃).

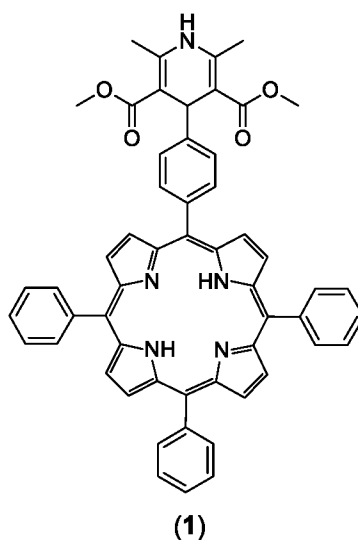
RMN de ¹³C: (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 171,01 (C8'), 167,95 (C10'), 146,29 (C11'), 142,41 (C13'), 133,62 (C12'), 128,10 (C4), 127,08 (C2'/C5'), 117,28 (C1), 107,26 (C2), 106,45 (C3), 102,36 (C3'/C5'), 60,27 (C5), 50,96 (C9'), 43,52 (C4'), 19,57 (C7').

IV ($\bar{\nu}$, cm⁻¹): 3341 cm⁻¹ (estiramento, N'-H); 2948 cm⁻¹ (estiramento, C-H do C4'); 1682 cm⁻¹ (estiramento, C=O), 1094 cm⁻¹ (deformação, N-H pirrólico), 884 cm⁻¹ (deformação, C-H pirrólico).

4.3 SÍNTESE DOS HÍBRIDOS PORFIRINA-1,4-DI-HIDROPIRIDINA A₃B, TRANS-A₂B₂ e A₄.

Esta seção traz a descrição da melhor metodologia para obtenção dos híbridos porfirina-1,4-di-hidropiridina. A seção de Resultados e Discussão apresenta todas as alternativas sintéticas testadas e o motivo pelo qual as metodologias descritas nessa seção foram as escolhidas.

4.3.1 Síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (1)



Em um balão de fundo redondo de 50 mL, contendo pérolas de vidro, foram adicionados 120 mg do composto **7** (0,375 mmol), 120 μ L de benzaldeído (120 mg; 1,125 mmol), 100 μ L de pirrol (100 mg; 1,5 mmol) e 6 mL de ácido propiônico (5.55 g; 75 mmol). O balão foi protegido da luz com auxílio de papel alumínio e

submetido a refluxo por duas horas. Após as duas horas de reação, a mistura foi retirada do refluxo e esperou-se até a mistura atingir temperatura ambiente. Com a mistura à temperatura ambiente foi adicionado ao meio clorofórmio e três gotas de trietilamina, a mistura foi agitada à temperatura ambiente por 30 min para solubilização de alguns precipitados formados durante a reação. Após completa solubilização dos precipitados, a mistura foi vertida em um funil de separação e a mistura foi extraída água/clorofórmio (1:1) por seis vezes. A fase orgânica foi recolhida em erlenmeyer protegido com papel alumínio e, então, foi realizada a filtração em funil simples contendo sulfato de sódio anidro para retirada de qualquer resquício de água, o filtrado foi recolhido em um becker e transferido para um balão de fundo redondo protegido com papel alumínio. O solvente do filtrado foi evaporado por rotaevaporação sob baixa pressão e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel ciclohexano/acetato de etila (2:1) como fase móvel. Com auxílio de cromatofolhas de sílica gel, a purificação por coluna foi monitorada. A primeira banda eluída continha a TPP (comparado com padrão do laboratório) e a segunda banda eluída correspondia ao produto desejado, (posteriormente confirmado pela caracterização estrutural, descrita abaixo). O produto foi recolhido em tubos de ensaio, e transferido para um balão de fundo redondo e a fase móvel foi evaporada por rotaevaporação sob baixa pressão. O produto possuía o aspecto de um sólido púrpura (150 mg, 12% de rendimento, com rendimento global à partir do aldeído-1,4-di-hidropiridina de 6%).

Nome IUPAC: 5- [4- (Dimetil-2,6-dimetil-1,4-di-hidropiridina-3,5- dicarboxilato) -fenil] - 10,15,20-trifenilporfirina.

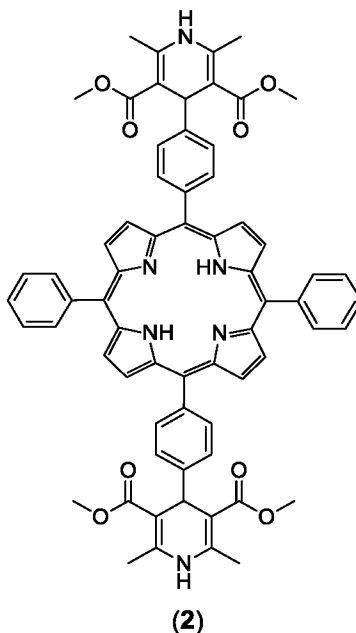
Massa molecular em alta resolução: m/z calculado para $[M+Na^+]$: 38,3387; encontrado: 838,3389.

RMN de 1H : (400 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm) : 8,01 (d, 2H, aromáticos, $J = 7,9$ Hz), 8,71-8,80 (m, 8H, β -pirrólicos), 8,12 (ddd, 6H, aromáticos), 7,97 (d, 2H, aromáticos, $J = 7,9$ Hz), 7,62-7,71 (m, 9H, aromáticos), 5,68 (s, 1H, N'-H), 5,27 (s, 1H, C4'-H), 3,74 (s, 6H, $COOCH_3$), 2,38 (s, 6H, CH_3), -2,83 (s, 2H, N-H).

RMN de ^{13}C : (101 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm) : 168,88 (C8'), 144,75 (C2'/C6'), 104,46 (C3'/C5'), 40,05 (C4'), 51,53 (C9'), 20,37 (C7'), 147,56 (C10'), 126,48 (C11'), 135,38 (C12'), 140,45 (C13'), 120,70 (C5), 131,46 (C2/C3), 142,88 (C1/C4), 140,54 (C6''), 135,38 (C1''/C5''), 128,12 (C4''/C2''), 127,06 (C3'').

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3318 cm^{-1} (estiramento, N'-H); 2919 cm^{-1} (estiramento, C-H do C4'); 1677 cm^{-1} (estiramento, C=O), 1098 cm^{-1} (deformação, N-H pirrólico), 876 cm^{-1} (deformação, C-H pirrólico).

4.3.2 Síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina *trans*-A₂B₂ (**2**)



Em um balão de fundo redondo de 50 mL, contendo pérolas de vidro, foram adicionados 250 mg do composto **7** (0,75 mmol), 80 μL de benzaldeído (80 mg; 0,75 mmol), 100 μL de pirrol (100 mg; 1,5 mmol) e 6 mL de ácido propiônico (5,55 g; 75 mmol). O balão foi protegido da luz com auxílio de papel alumínio e submetido a refluxo por quatro horas. Após as quatro horas de reação, a mistura foi retirada do refluxo até a mistura atingir temperatura ambiente. Com a mistura à temperatura ambiente foi adicionado ao meio clorofórmio e três gotas de trietilamina, a mistura foi agitada à temperatura ambiente por 30 min para solubilização de alguns precipitados formados durante a reação. Após completa solubilização dos precipitados, a mistura foi vertida em um funil de separação e a mistura foi extraída água/clorofórmio (1:1) por seis vezes. A fase orgânica foi recolhida em erlenmeyer protegido com papel alumínio e, então, foi realizada a filtração em funil simples contendo sulfato de sódio anidro para retirada de qualquer resquício de água. O filtrado foi recolhido em um becker e transferido para um balão de fundo redondo protegido com papel alumínio. O solvente do filtrado foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por meio de cromatografia de coluna com sílica gel, tendo ciclohexano/acetato de etila (2:1) como

fase móvel. Com auxílio de cromatofolhas de sílica gel, a purificação foi monitorada. A primeira banda eluída continha a TPP (comparado com padrão do laboratório), a segunda banda eluída continha o híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B e a terceira banda eluída correspondia ao produto desejado (posteriormente confirmado pela caracterização estrutural, descrita abaixo). O produto foi transferido para um balão de fundo redondo e a fase móvel foi evaporada sob pressão reduzida. O produto apresentou o aspecto de sólido púrpura (160 mg, 10% de rendimento, com rendimento global a partir do aldeído-1,4-di-hidropiridina de 5%).

Nome IUPAC: 5,15- [bis-4- (Dimetil-2,6-dimetil-1,4-di-hidropiridina-3,5- dicarboxilato) -fenil] -10,20- [bis (fenil)] – porfirina.

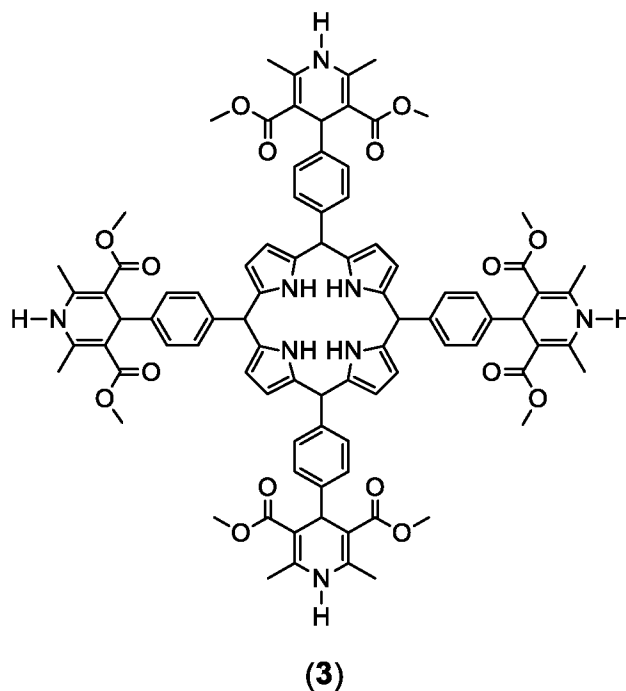
Massa molecular em alta resolução: m/z calculado para [M+Li⁺]: 1076,6307; encontrado: 1076,6300.

RMN de ¹H: (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 8,71-8,80 (m, 8H, β -pirrólicos), 8,12 (ddd, 4H, aromáticos), 7,97 (d, 4H, aromáticos, $J = 8,0$ Hz), 7,61-7,70 (m, 6H, aromáticos), 7,53 (d, 4H, aromáticos, $J = 8,0$ Hz), 5,71 (s, 2H, N'-H), 5,27 (s, 2H, C4'-H), 3,73 (s, 12H, COOCH₃), 2,37 (s, 12H, CH₃), -2,84 (s, 2H, N-H).

RMN de ¹³C: (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 170,58 (C8'), 149,13 (C6''), 146,39 (C10'), 144,40 (C2'/C6'), 141,65 (C13'), 136,66 (C12'), 133,17 (C5), 131,01 (C1''/C5''), 130,58 (C3''), 129,75 (C11'), 128,65 e 128,06 (C2/C3), 128,12 (C4''/C2''), 106,20 (C3'/C5'), 41,64 (C4'), 53,37 (C9'), 21,94 (C7').

IV ($\bar{\nu}$, cm⁻¹): 3309 cm⁻¹ (estiramento, N'-H); 2923 cm⁻¹ (estiramento, C-H do C4'); 1677 cm⁻¹ (estiramento, C=O), 1097 cm⁻¹ (deformação, N-H pirrólico), 876 cm⁻¹ (deformação, C-H pirrólico).

4.3.3 Síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A₄



Em um balão de fundo redondo de 50 mL, contendo pérolas de vidro, foram adicionados 450 mg do composto **7** (1,5 mmol), 100 μ L de pirrol (100 mg; 1,5 mmol) e 6 mL de ácido propiônico (5,55 g; 75 mmol). O balão foi protegido da luz com auxílio de papel alumínio e submetido a refluxo por seis horas. Após as seis horas de reação, a mistura foi retirada do refluxo até atingir temperatura ambiente. Com a mistura à temperatura ambiente foi adicionado ao meio clorofórmio e três gotas de trietilamina, a mistura foi agitada à temperatura ambiente por 30 min para solubilização de alguns precipitados formados durante a reação. Após completa solubilização dos precipitados, a mistura foi vertida em um funil de separação e a mistura foi extraída com água/clorofórmio (1:1) por seis vezes. A fase orgânica foi recolhida em erlenmeyer protegido com papel alumínio e, então, foi realizada a filtração em funil simples contendo sulfato de sódio anidro para retirada de qualquer resquício de água. O filtrado foi recolhido em um becker e transferido para um balão de fundo redondo protegido com papel alumínio. O solvente do filtrado foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por meio de cromatografia em coluna de sílica gel, com acetato de etila/metanol (9:1) como fase móvel. Com auxílio de cromatofolhas de sílica gel, a purificação foi monitorada. A primeira banda eluída correspondia ao produto desejado (posteriormente confirmado pela caracterização estrutural, descrita abaixo). O produto foi transferido para um balão de fundo redondo e a fase móvel foi

evaporada sob pressão reduzida. O produto apresentou o aspecto de um sólido púrpura (60 mg, 4% de rendimento, com rendimento global a partir do aldeído-1,4-dihidropiridina de 2%).

Nome IUPAC: 5,10,15,20 –[Tetrakis-4-(dimetil-2,6-dimetil-1,4-di-hidropiridina-3,5-dicarboxilato)-fenil]-porfirina.

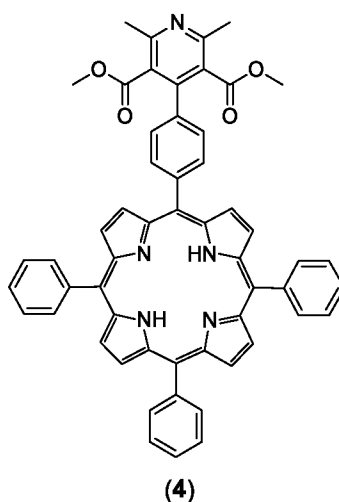
Massa molecular em alta resolução: m/z calculado para $[M+H]^+$: 1504,5198; encontrado: 1504,5190.

RMN de 1H : (400 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 9,13 (s, 4H, N'-H), 8,73 (sl, 8H, β -pirrólicos), 8,06 (d, 8H, aromáticos, $J = 7,8$ Hz), 7,57 (d, 8H, aromáticos, $J = 7,8$ Hz), 5,29 (s, 4H, C4'-H), 3,75 (s, 24H, $COOCH_3$), 2,44 (s, 24H, CH_3).

RMN de ^{13}C : (101 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 168,30 (C8'), 147,39 (C10'), 145,70 (C2'/C6'), 140,55 (C13'), 134,70 (C12'), 134,37 (C5), 128,65 e 128,06 (C2/C3), 125,50 (C11'), 120,75 (C1/C4), 103,22 (C3'/C5'), 38,10 (C4'), 50,80 (C9'), 18,67 (C7').

4.4 SÍNTESE DOS HÍBRIDOS PORFIRINA-PIRIDINA A₃B (4), TRANS-A₂B₂ (5) e A₄ (6).

4.4.1 Síntese do híbrido porfirina-piridina A₃B (4)



Em um balão de fundo redondo, recoberto com papel alumínio, foram adicionados 200 mg do composto **1** (0,24 mmol), 54 mg de 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) (0,24 mmol) e 10 mL de clorofórmio. A mistura reacional foi submetida a agitação por uma hora. Após uma hora de reação, a mistura reacional

foi filtrada por meio de placa porosa contendo celite e clorofórmio como solvente, para reter o agente oxidante DDQ. O filtrado foi recolhido em um becker e transferido para um balão recoberto com papel alumínio. O filtrado foi evaporado sob baixa pressão para retirada do clorofórmio. O resíduo foi purificado por meio de cromatografia em coluna de sílica gel, usando ciclohexano/acetato de etila (2:1) como fase móvel. A purificação foi monitorada com o auxílio de cromatoplasas de sílica gel. A primeira banda eluída correspondia ao produto desejado (posteriormente confirmado pela caracterização estrutural, descrita abaixo). O produto foi transferido para um balão de fundo redondo e a fase móvel foi evaporada sob pressão reduzida. O produto apresentou o aspecto de um sólido púrpura (160 mg, 80% de rendimento, com rendimento global a partir do aldeído-1,4-di-hidropiridina de 5%).

Nome IUPAC: 5- [4- (Dimetil-2,6-dimetil-3,5-piridinodicarboxilato) - fenil] -10,15,20-trifenilporfirina

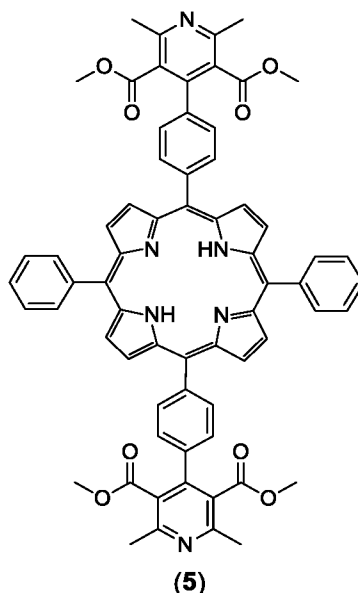
Massa molecular em alta resolução: m/z calculado para $[M+H]^+$: 836,3231; encontrado: 836,3234.

RMN de 1H : (400 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 8,75-8,80 (m, 6H, aromáticos), 8,66 (d, 2H, aromáticos, $J = 8,0$ Hz), 8,10-8,18 (m, 8H, β -pirrólicos), 7,62 (d, 2H, aromáticos, $J = 8,0$ Hz), 7,62-7,71 (m, 9H, aromáticos), 3,75 (s, 6H, $COOCH_3$), 2,65 (s, 6H, CH_3), -2,84 (s, 2H, N-H).

RMN de ^{13}C : (101 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 169,91 ($C8'$), 157,44 ($C4'$), 143,60 ($C2'/C6'$), 141,44 ($C3'/C5'$), 137,63 ($C10'$), 139,99 ($C13'$), 135,99 e 135,63 ($C2/C3$), 129,80 ($C1''/C5''$), 129,52 ($C4''/C2''$), 129,57 ($C5$), 129,36 ($C1/C4$), 129,20 ($C3''$), 128,89 ($C6''$), 128,13 ($C12'$), 127,61 ($C11'$), 53,85 ($C9'$), 24,61 ($C7'$).

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3320 cm^{-1} (estiramento, N=C); 1677 cm^{-1} (estiramento, C=O), 1072 cm^{-1} (deformação, N-H pirrólico), 872 cm^{-1} (deformação, C-H pirrólico).

4.4.2 Síntese do híbrido porfirina-piridina *trans*-A₂B₂ (**5**)



Em um balão de fundo redondo, recoberto com papel alumínio, foram adicionados 200 mg do composto **2** (0,2 mmol), 100 mg de 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) (0,4 mmol) e 10 mL de clorofórmio. A mistura reacional foi submetida a agitação por uma hora. Após uma hora de reação, a mistura reacional foi filtrada por meio de placa porosa contendo celite e clorofórmio como solvente, para reter o agente oxidante DDQ. O filtrado foi recolhido em um becker e transferido para um balão recoberto com papel alumínio. O filtrado foi evaporado sob pressão reduzida para retirada do clorofórmio. O resíduo foi purificado por meio de cromatografia em coluna de sílica gel, usando ciclohexano/acetato de etila (2:1) como fase móvel. A purificação foi monitorada com o auxílio de cromatoplaças de sílica gel. A primeira banda eluída correspondia ao produto desejado (posteriormente confirmado pela caracterização estrutural, descrita abaixo). O produto foi transferido para um balão de fundo redondo e a fase móvel foi evaporada sob pressão reduzida. O produto apresentou o aspecto de um sólido púrpura (140 mg, 70% de rendimento, com rendimento global a partir do aldeído-1,4-di-hidropiridina de 3%).

Nome IUPAC: 5,15- [bis-4- (dimetil 2,6-dimetil-3,5-piridinadicarboxilato) - fenil] -10,20-[bis (fenil)] – porfirina.

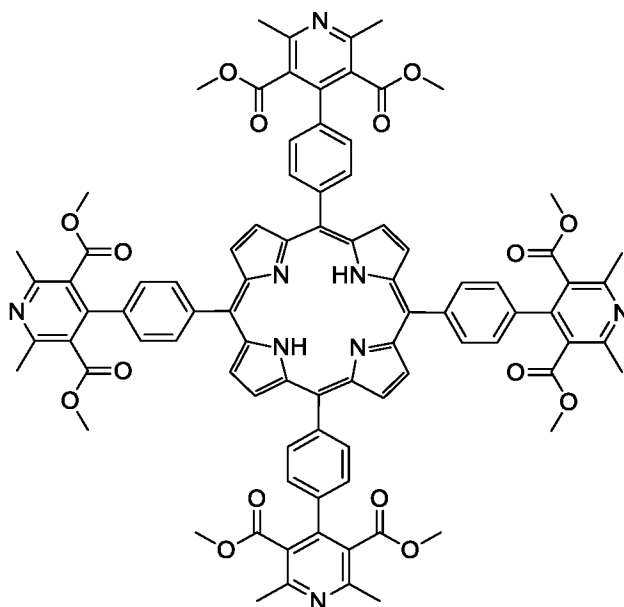
Massa molecular em alta resolução: m/z calculado para [M+Li⁺]: 1043,7319; encontrado: 1043,7321.

RMN de ^1H : (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 8,74-8,81 (m, 4H, aromáticos), 8,65 (d, 4H, aromáticos, $J=7,8$ Hz), 8,09-8,18 (m, 8H, β -pirrólicos), 7,62-7,72 (m, 9H, aromáticos), 7,54 (d, 4H, aromáticos, $J=7,8$ Hz), 3,75 (s, 12H, COOCH_3), 2,65 (s, 12H, CH_3), -2,84 (s, 2H, N-H).

RMN de ^{13}C : (101 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 170,58 ($\text{C8}'$), 158,11 ($\text{C4}'$), 148,39 ($\text{C2}'/\text{C6}'$), 144,59 ($\text{C3}'/\text{C5}'$), 144,14 ($\text{C10}'$), 138,27 ($\text{C13}'$), 136,60 e 136,20 ($\text{C2}/\text{C3}$), 133,31 ($\text{C1}''/\text{C5}''$), 132,58 ($\text{C4}''/\text{C2}''$), 129,82 ($\text{C3}''$), 128,75 ($\text{C12}'$), 128,23 ($\text{C11}'$), 22,38 (C5), 54,36 ($\text{C9}'$), 25,17 ($\text{C7}'$).

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3321 cm^{-1} (estiramento, N=C); 1727 cm^{-1} (estiramento, C=O), 1072 cm^{-1} (deformação, N-H pirrólico), 873 cm^{-1} (deformação, C-H pirrólico).

4.4.3 Síntese do híbrido porfirina-piridina A₄ (**6**)



(**6**)

Em um balão de fundo redondo, recoberto com papel alumínio, foram adicionados 100 mg do composto **3** (0,00655 mmol), 60 mg de 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4- benzoquinona (DDQ) (0,264 mmol) e 10 mL de clorofórmio. A mistura reacional foi submetida a agitação por uma hora. Após uma hora de reação, a mistura reacional foi filtrada por meio de placa porosa contendo celite e clorofórmio como solvente, para reter o agente oxidante DDQ. O filtrado foi recolhido em um becker e transferido para um balão recoberto com papel alumínio. O filtrado foi evaporado sob pressão reduzido para retirada do clorofórmio. O resíduo foi purificado por meio de cromatografia em

coluna de sílica gel, usando acetato de etila/metanol (9:1) como fase móvel. A purificação foi monitorada com o auxílio de cromatoplasas de sílica gel. A primeira banda eluída correspondia ao produto desejado (posteriormente confirmado pela caracterização estrutural, descrita abaixo). O produto foi transferido para um balão de fundo redondo e a fase móvel foi rotaevaporada pressão reduzida. O produto apresentou o aspecto de um sólido púrpura (97 mg, 98% de rendimento, com rendimento global a partir do aldeído-1,4-di-hidropiridina de 2%).

Nome IUPAC: 5,10,15,20 - [tetrakis-4- (Dimetil 2,6-dimetil-3,5-piridinodicarboxilato) - fenil] -porfirina

Massa molecular em alta resolução: m/z calculado para $[M+H]^+$: 1499,7600; encontrado: 1499,7610.

RMN de 1H : (400 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm): 8,73 (sl, 8H, β -pirrólicos), 8,17 (d, 8H, aromáticos, $J=7,4$ Hz), 7,58 (d, 8H, aromáticos, $J=7,4$ Hz), 3,79 (s, 24H, $COOCH_3$), 2,66 (s, 24H, CH_3). -2,81 (s, 2H, N-H).

RMN de ^{13}C : (101 MHz, $CDCl_3$), δ (ppm) : 170,62 ($C8'$), 158,64 ($C4'$), 148,11 ($C2'/C6'$), 145,00 ($C1/C4$), 144,64 ($C10'$), 138,66 ($C13'$), 136,28 e 136,16 ($C2/C3$), 133,84 ($C3'/C5'$), 128,46 ($C11'$), 128,99 ($C12'$), 121,63 ($C5$), 54,47 ($C9'$), 25,18 ($C7'$).

IV ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3322 cm^{-1} (estiramento, N=C); 1561 cm^{-1} (estiramento, C=O), 1105 cm^{-1} (deformação, N-H pirrólico), 874 cm^{-1} (deformação, C-H pirrólico).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A seção de resultados e discussões desta tese encontra-se dividida em cinco partes. A primeira parte trata da síntese dos intermediários-chave, necessários para a síntese dos produtos finais. A segunda e terceira parte trata da síntese dos híbridos porfirínicos com 1,4-di-hidropiridinas e síntese dos híbridos porfirínicos com piridinas, respectivamente. A quarta parte trata da caracterização dos compostos sintetizados e a quinta parte dos resultados dos ensaios fotofísicos.

No presente trabalho, a síntese dos macrocíclos foi planejada para combinar duas classes farmacológicas de compostos heterocíclicos, 1,4-di-hidropiridinas, ou piridinas, com porfirinas. Uma combinação de duas classes farmacológicas distintas foi realizada com o objetivo de observar seu comportamento fotofísico e para que em futuros projetos tais compostos possam ser utilizados como protótipos de substâncias com atividade antineoplásicas na Terapia Fotodinâmica.

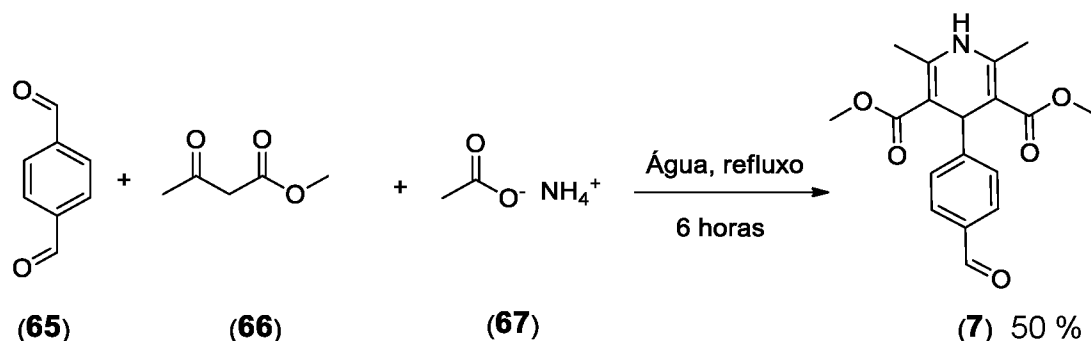
5.1 Síntese dos intermediários-chave

Para sintetizar e otimizar a síntese dos híbridos porfirinas-1,4-di-hidropiridinas A_3B (**1**), *trans*- A_2B_2 (**2**) e A_4 (**3**) fez-se necessário a construção prévia de dois intermediários-chave. Primeiramente, foi obtido o intermediário-chave aldeído 1,4-di-hidropiridina (**7**). A partir desse, foi possível obter o segundo intermediário-chave, o *meso*-1,4-di-hidropiridina dipirrometano (**8**). Os resultados e discussões para obtenção desses compostos são apresentados a seguir.

5.1.1 Síntese do aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**)

Para a síntese do aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**) foi estudada a reação descrita por Teng e colaboradores (2008). Esta reação segue a metodologia clássica de síntese de 1,4-di-hidropiridinas proposta por Hantzsch em 1982, na qual, em um único frasco (*one-pot*), são adicionados 1 equivalente de um aldeído, 2 equivalentes de um β -cetoéster e 1,5 equivalentes de acetato de amônio, em solvente prótico, como por exemplo, água, metanol ou etanol. O acetato de amônio atua como doador de nitrogênio para o composto a ser obtido, e também como o catalisador da reação. De

a acordo com o exposto na literatura, durante a reação foi possível verificar a precipitação do produto. Para tal, Teng e colaboradores utilizaram os seguintes reagentes: teraftaldeído (**65**), acetoacetato de metila (**66**) e acetato de amônio (**67**) em água, sob refluxo por 6 horas (ESQUEMA 12).



Esquema 12: Síntese do aldeído-1,4-di-hidropiridina segundo Teng e colaboradores (2008).

No presente trabalho, ao se reproduzir a reação citada, alguns problemas foram detectados. O primeiro problema encontrado foi a remanescência de boa parte do teraftaldeído (**65**) empregado, o que ocasionava a co-cristalização do composto **7** e de **65**, não sendo possível obter o produto com pureza adequada. Assim, fez-se necessário realizar a purificação do composto **7** por coluna cromatográfica. Para isso, primeiramente foram testadas diferentes fases móveis para cromatografia em camada delgada, a fim de se selecionar uma fase móvel ideal para purificação do composto **7**.

O princípio geral das cromatografias se baseia no equilíbrio dos compostos de uma mistura entre duas fases. Este equilíbrio se passa entre uma fase estacionária (suporte de sílica) e um fluido móvel (eluente ou fase móvel) que está em contato íntimo com ela. Na cromatografia em camada delgada, o eluente passa, por ação de capilaridade, sobre a amostra adsorvida na cromatoplaça, arrastando os componentes com velocidades diferentes. Cada composto apresentará então uma migração característica, a qual é calculada por meio do fator de retenção (R_f). O R_f é calculado pela diferença entre a distância percorrida por um composto na fase estacionária e a distância percorrida pela fase móvel, a partir do ponto de aplicação.

A FIGURA 21 demonstra uma situação hipotética de cálculo de R_f . Neste exemplo, a fase móvel percorreu, 8 cm através da cromatoplaça de sílica gel. O composto representado em verde não apresentou deslocamento, logo seu R_f é igual a zero. O composto roxo, por sua vez, deslocou-se juntamente com a fase móvel, logo

seu R_f é igual a 1. Já os compostos amarelo e vermelho se deslocaram de maneira semelhante, logo apresentam R_f muito próximos.

Uma vez que intenção desta abordagem foi desenvolver uma fase móvel, através da cromatografia em camada delgada (analítica), para que mesma fosse utilizada na cromatografia em coluna (preparativa), algumas ponderações foram feitas. Em uma cromatoplaça, como a proposta na FIGURA 21, o R_f ideal para uma futura separação de um composto numa coluna de sílica seria entre 0,1 e 0,5. Em outras palavras, o composto deve se deslocar do ponto de aplicação, porém não deve ultrapassar a metade da distância percorrida pela fase móvel. Outra análise importante está relacionada a diferença de R_f (R_f) entre duas substâncias. Na proposta da FIGURA 21, os compostos amarelo e vermelho apresentam uma diferença de R_f (R_f) de 0,03. Compostos com valores de R_f menores que 0,1 são difíceis de serem purificados por coluna cromatográfica, sendo possível a purificação apenas por cromatografia em camada delgada preparativa.

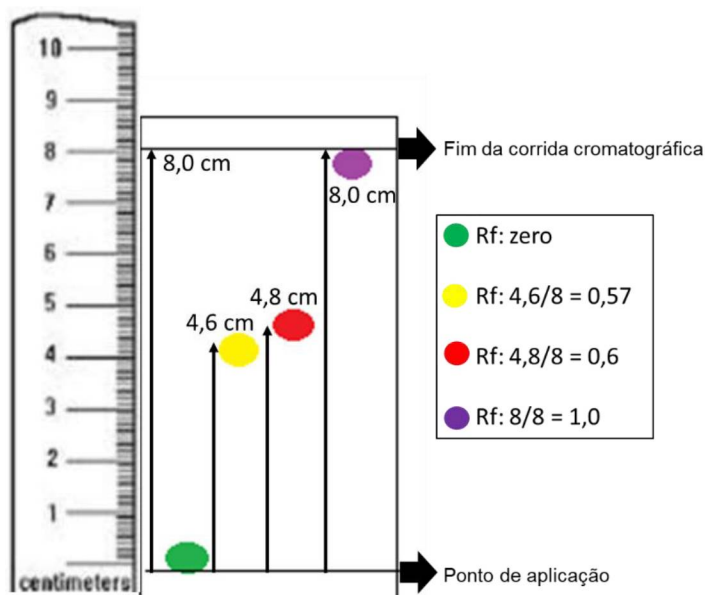


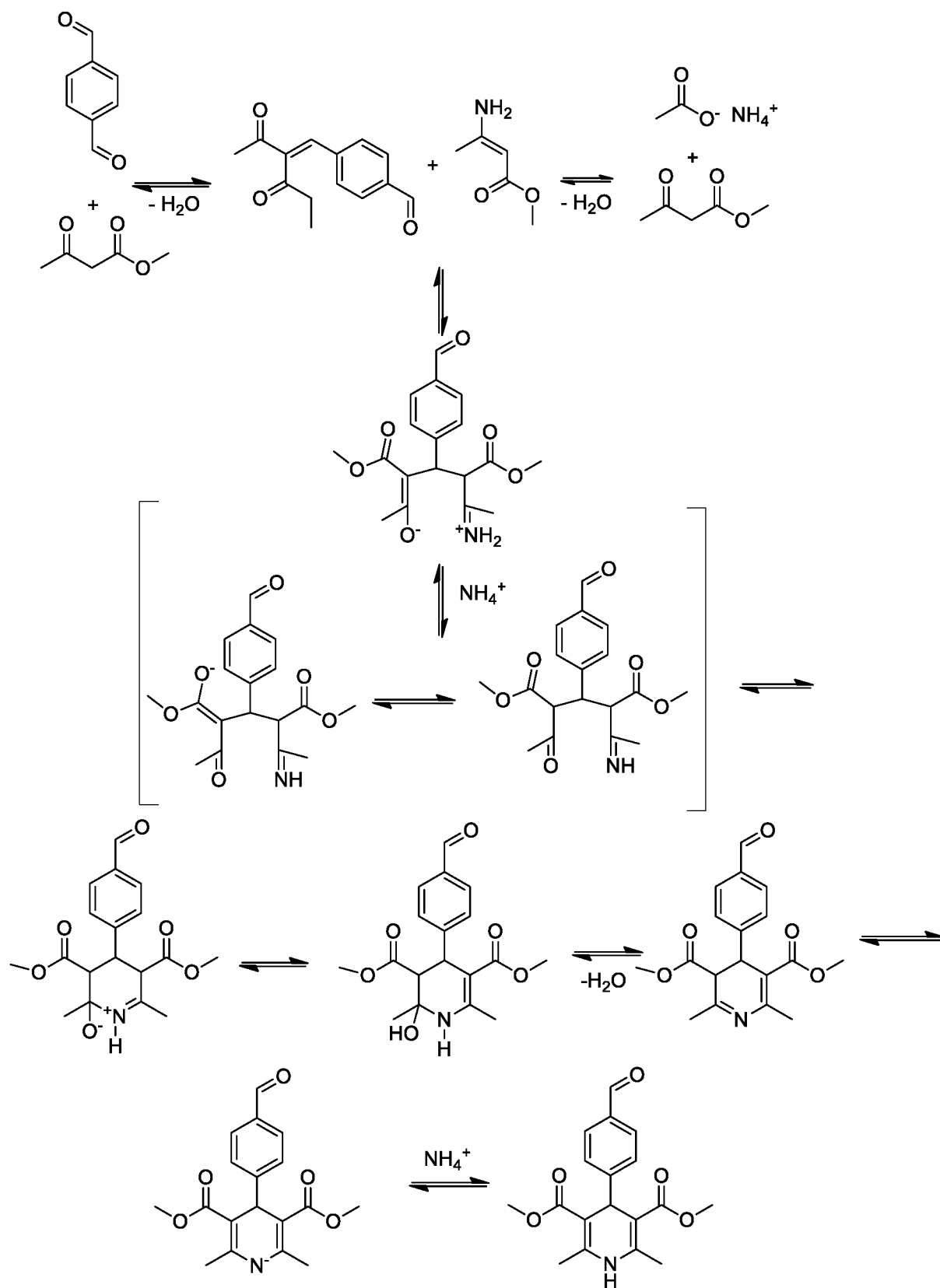
Figura 21: Exemplo de cálculo do tempo de retenção na cromatografia.
FONTE: O AUTOR.

No presente trabalho, o teraftaldeído (**65**) e o composto **7** se comportaram de maneira semelhante aos compostos amarelo e vermelho (FIGURA 1). Diante disso, foram testadas diferentes fases móveis que promovesse o aumento do R_f entre **65** e **7**, e que permitisse que os mesmos fossem separados dentro de um R_f até 0,5. A

partir de várias tentativas, a melhor fase móvel encontrada foi ciclohexano:acetato de etila (3:1). Esta fase móvel ocasionou uma grande retenção dos compostos, sendo os mesmos eluídos lentamente pela coluna cromatográfica, o que acarretou a necessidade de dois dias para realização da coluna, e a completa purificação produto de reação.

Diante do tempo necessário para purificação do composto **7** por meio de coluna cromatográfica, além do gasto elevado de solventes decorrentes deste processo, o tempo de reação foi aumentado substancialmente, para que ocorresse o completo consumo do teraftaldeído (**65**). Assim, a reação foi conduzida em duas condições distintas: “overnight” e em 24 h. Por meio do monitoramento da reação por cromatografia em camada delgada, foi observado que somente em 24 h era possível obter o consumo total de **65**.

O mecanismo de reação proposto (ESQUEMA 13) demonstra que para a obtenção da 1,4-di-hidropiridina são formados os intermediários beta-cetoéster (**68**) e enaminona (**69**) *in situ*. A formação do intermediário beta-cetoéster ocorre por meio de uma reação de condensação de Knoevenagel, a qual é um tipo condensação aldólica. Esta reação consiste na adição nucleofílica de um aldeído ou cetona a uma molécula dicarbonílica (ex: beta-cetoésteres). Este ataque nucleofílico é catalisado por uma base, ocorrendo a eliminação de uma molécula de água. Já a formação do intermediário enaminona ocorre por meio de uma reação de adição-eliminação entre um composto dicarbonílico com uma amina. A 1,4-di-hidropiridina é finalmente formada por uma reação de adição de Michael entre os intermediários enaminona e beta-cetoéster.

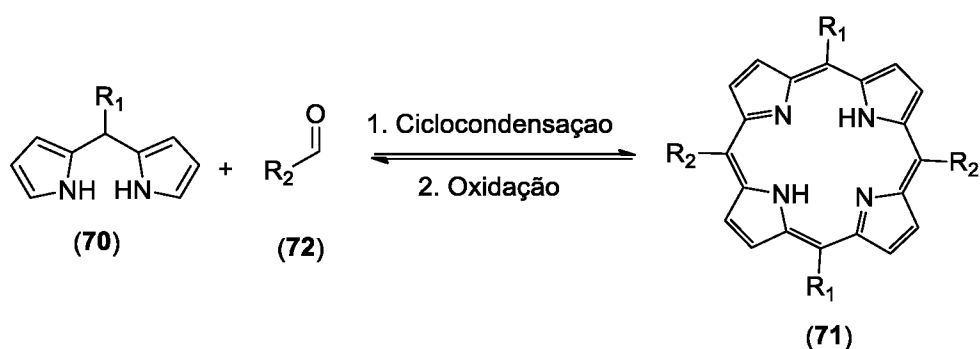


Esquema 13: Mecanismo de reação da formação do aldeído-1,4-di-hidropiridina (7)
 FONTE: Modificado de GUANAES, 2015.

Após a adaptação realizada, a reação descrita por Teng e colaboradores mostrou-se eficiente para obtenção do aldeído 1,4-di-hidropiridina (**7**) no presente trabalho, com rendimento de 50%, por meio de purificação por precipitação em ciclohexano e éter etílico. A síntese do composto **7** foi comprovada por meio de quatro técnicas analíticas: espectrometria de RMN de ^1H , espectrometria de RMN de ^{13}C , espectrofotometria no Infravermelho e espectrometria de massas de alta resolução. A caracterização detalhada do composto **7** está descrita na seção 5.4.1.1 desta tese.

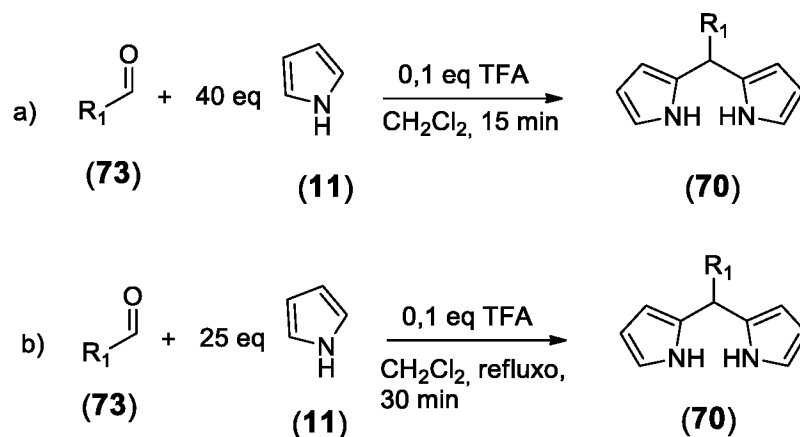
5.1.2 Síntese do intermediário-chave *meso*-1,4-di-hidropiridina dipirrometano (**8**)

Em 1994, Lee e Lindsey estudaram a síntese de dipirrometanos (**70**) para posterior aplicação na síntese de porfirinas *trans*-substituídas (**71**) (ESQUEMA 14).



Esquema 14: Síntese da porfirina *trans*-substituída via dipirrometano.
 FONTE: Modificado e traduzido de Lee e Lindsey (1994).

Na reação de obtenção de dipirrometanos (**70**), segundo Lee e Lindsey (1994), são empregados 40 equivalentes de pirrol (**11**) para 1 equivalente de aldeído (**73**) e quantidade catalítica de ácido trifluoroacético (TFA), em diclorometano, à temperatura ambiente por 15 minutos (ESQUEMA 15a). Em 2011, Ló e colaboradores, sintetizaram glico-dipirrometanos empregando 25 equivalentes de pirrol (**11**) para 1 equivalente de aldeído (**73**), na presença quantidade catalítica de ácido trifluoroacético (TFA), sob refluxo de diclorometano por 30 minutos (ESQUEMA 15b). No presente trabalho, para a síntese do *meso*-1,4-di-hidropiridina dipirrometano (**8**) foram testadas ambas as metodologias, a primeira (Lee; Lindsey, 1994) por ser a metodologia clássica para síntese de dipirrometanos e a segunda (Ló, *et al.*, 2011), por ter sido desenvolvida no laboratório no qual foi realizado o presente trabalho.



Esquema 15: Metodologias testadas para síntese do *meso*-1,4-di-hidropiridina dipirrometano (8).

FONTE: modificado de Lee, Lindsey (1994) e Ló, *et al.*, (2011).

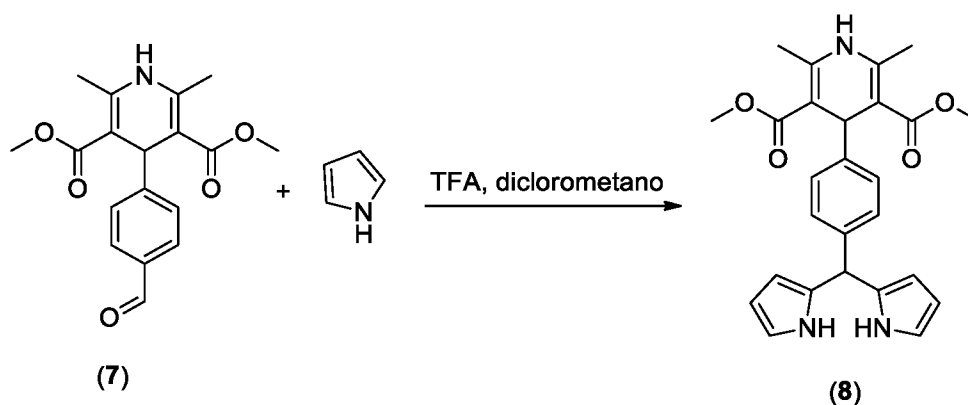
A reação mostrada no ESQUEMA 15a foi então testada utilizando o aldeído-1,4-di-hidropiridina (7) como material inicial, sendo obtidos somente traços do dipirrometano de interesse (8). A fim de se confirmar a formação de 8 nestas condições, após o término da reação, uma pequena quantidade do meio reacional foi aplicada em uma cromatoplaça de sílica, sendo a mesma submetida a cromatografia em camada delgada com fase móvel ciclohexano/acetato de etila (3:1), seguindo-se de revelação com solução de resorcinol com aquecimento. Após a revelação, foi possível observar que o aldeído 7 não havia sido completamente consumido e que havia ocorrido a formação de uma nova banda. A fim de se verificar se a nova banda corresponderia a 8, foi realizada uma cromatografia em camada delgada semipreparativa. Após localizar a nova banda por visualização com UV, esta foi raspada e extraída com acetato de etila. O solvente foi evaporado e o resíduo foi submetido a análise de espectrometria de massas, sendo encontrado o íon de m/z 468,18, referente ao composto (8) ($\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$) como aduto de Na^+ , indicando que o composto de interesse havia sido obtido.

Uma limitação descrita por Ló, *et al.*, (2011) ao realizar a metodologia de Lee e Lindsey (1994), consiste na dificuldade de retirar do meio reacional o excesso de pirrol ao término da reação. Segundo, Lee e Lindsey (1994), o excesso de pirrol deve ser removido por evaporação em baixa pressão. Contudo, no laboratório onde o presente trabalho foi realizado, o sistema de evaporação não propiciava pressão reduzida suficiente para realizar tal operação, sendo necessário o uso de uma alta temperatura, o que ocasionava a degradação do dipirrometano formado. Diante disso, foi

descartada a otimização da metodologia de Lee e Lindsey (1994), sendo então realizada a metodologia de Ló, *et al.*, (2011) (ESQUEMA 15b).

A metodologia de Ló e colaboradores (2011) foi primeiramente realizada exatamente como descrita, sendo acompanhada por cromatografia em camada delgada, utilizando o dipirrometano **8**, obtido na reação preliminar, como padrão de cromatografia (TABELA 3). Novamente, ao término da reação (ENTRADA 1, TABELA 3), foi observado que o aldeído **7** não havia sido totalmente consumido, formando traços do dipirrometano (**8**). A partir deste ponto, foi realizada uma otimização, baseando-se nas condições descritas por Ló, *et al.*, (2011). Nas entradas 2 e 3 (TABELA 3), o tempo de reação foi aumentado para uma e duas horas, respectivamente. Apesar do aumento do rendimento referente ao dipirrometano **8**, foi observado por cromatografia em camada delgada a formação de muitos subprodutos com Rf próximos ao composto desejado, o que refletiu em dificuldades na purificação por coluna cromatográfica. Diante disso, foram testadas condições à 25 °C (ENTRADAS 4 e 5, TABELA 3), alcançando-se 30% de rendimento em 1 h de reação, e 40% de rendimento em 2 h.

Foram estudados também outras metodologias envolvendo a síntese de dipirrometanos, as quais utilizavam, no máximo, 8 equivalentes de pirrol para 1 equivalente de aldeído, com quantidade catalítica de ácido trifluoroacético (TFA) à 25 °C. Nas metodologias citadas, para cada aldeído empregado havia um tempo ideal de reação (BRÜCKNER, *et al.*, 1997; BUCHER, *et al.*, 2000; THAMYONGKIT, *et al.*, 2006; GARABATOS-PERERA, ROTSTEIN, THOMPSON, 2007; ABADA, *et al.*, 2011). As entradas 6 e 7 trazem os rendimentos das condições em que se empregou 8 equivalentes de pirrol para 1 equivalente do composto (**7**), à 25 °C. Foram avaliados dois tempos diferentes, 2 h de reação com 40 % de rendimento (ENTRADA 6, TABELA 3) e 3 horas de reação com 45% de rendimento (ENTRADA 7, TABELA 3). Como não houve uma diferença considerável de rendimento entre os dois tempos de reação testados, a reação da entrada 6 foi escolhida como condição padrão para síntese do dipirrometano **8**.



| Entrada ¹ | Composto (7) (mmol) | Pirrol (mmol) | Temperatura | Tempo (h) | Rendimento (%) ² |
|----------------------|---------------------|---------------|-------------|-----------|-----------------------------|
| 1 | 3,3 | 82,5 | refluxo | 0,5 | traços |
| 2 | 3,3 | 82,5 | refluxo | 1 | 20 |
| 3 | 3,3 | 82,5 | refluxo | 2 | 25 |
| 4 | 3,3 | 82,5 | 25 °C | 1 | 30 |
| 5 | 3,3 | 82,5 | 25 °C | 2 | 40 |
| 6 | 3,3 | 26,4 | 25 °C | 2 | 40 |
| 7 | 3,3 | 26,4 | 25 °C | 3 | 45 |

¹ Composto (7), Pirrol (11), TFA (40 mg, 0,3 mmol), agitação magnética

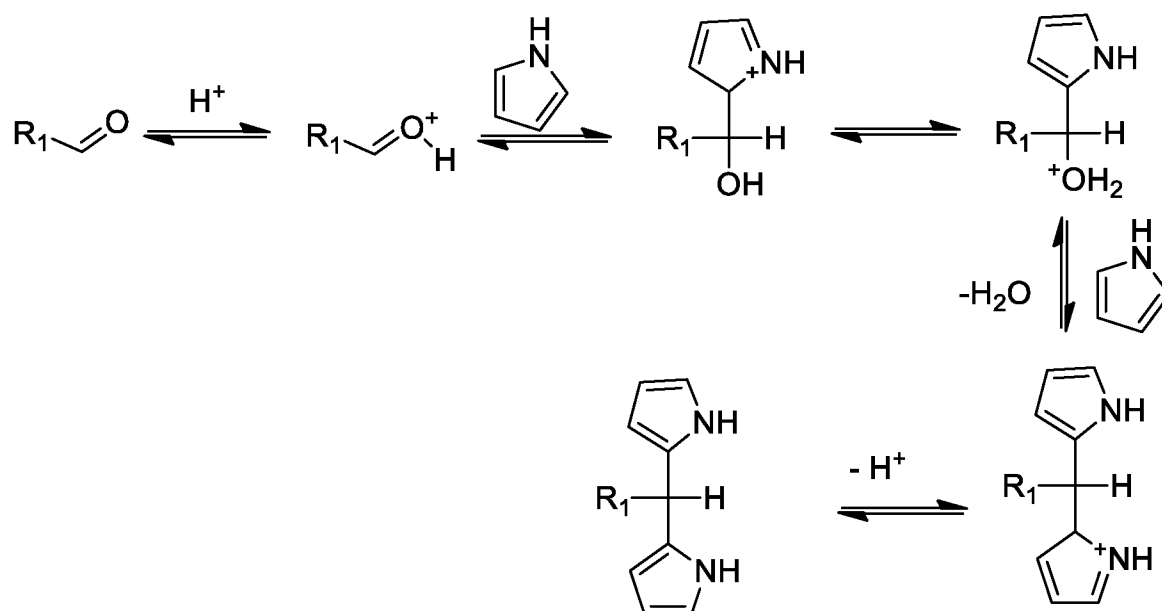
² Os rendimentos foram calculados após purificação por coluna cromatográfica.

Tabela 3: Otimização da síntese do *meso*-1,4-di-hidropiridina dipirrometano.

As vantagens de se utilizar oito equivalentes de pirrol (11), ao invés de vinte e cinco equivalentes, são: maior facilidade de retirar o excesso de pirrol do meio reacional por evaporação em baixa temperatura e a possibilidade de utilizar uma fase móvel um pouco mais polar na purificação por coluna cromatográfica.

Foi comprovada a síntese do composto 8 por meio de quatro técnicas analíticas: espectrometria de RMN de ¹H, espectrometria de RMN de ¹³C, espectrofotometria no Infravermelho e espectrometria de massas de alta resolução. A caracterização detalhada no composto 8 está descrita na seção 5.4.1.2 desta tese.

Abaixo, segue a proposta de mecanismo de reação para a formação de dipirrometanos (ESQUEMA 16). Em quantidade equimolares, o aldeído e o pirrol sofrem condensação catalisada por ácido, formando oligômeros e o porfirinogênio (73). Porém, ao utilizar excesso de pirrol, o dipirrometano (70) é formado preferencialmente, sem a formação dos tais oligômeros. O pirrol atua como reagente e solvente da reação.

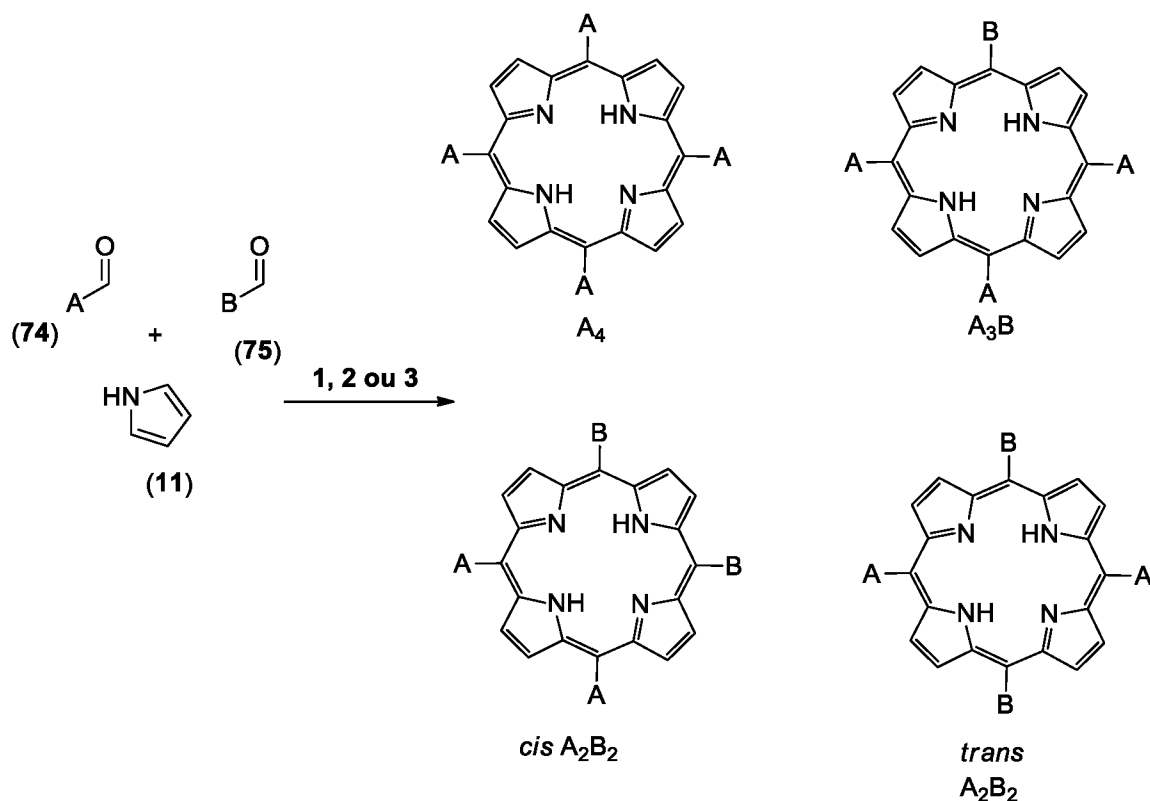


Esquema 16: Mecanismo de reação de formação do dipirrometano.

De acordo com o mecanismo acima mostrado (ESQUEMA 16), o aldeído é protonado em meio ácido, aumentando a carga parcial positiva do carbono carbonílico. Os elétrons π do pirrol realizam o ataque nucleofílico no carbono carbonílico formando uma nova ligação C-C. Em seguida, ocorre a perda de uma molécula de água e formação de um carbocátion, o qual sofre ataque nucleofílico de outra molécula de pirrol. Após reestabelecimento da aromaticidade, constitui-se então o dipirrometano.

5.2 Síntese dos híbridos porfirina-1,4-di-hidropiridinas A_2B (**1**), *trans*- A_2B_2 (**2**) e A_4 (**3**).

Os métodos clássicos de obtenção de porfirinas *meso* substituídas consistem em reagir pirrol e aldeído(s) em quantidades equimolares (ESQUEMA 17). Para obtenção de uma porfirina A_4 , a proporção entre o aldeído **74** e pirrol (**11**) deve ser 1:1. Quando se emprega a proporção 3:1:4 (aldeído **74**, aldeído **75** e pirrol **11**), espera-se a formação majoritária da porfirina A_3B , porém é possível observar a formação minoritária das porfirinas A_4 , *cis* A_2B_2 e *trans* A_2B_2 . As proporções 1:1:2 dos reagentes (aldeído **74**, aldeído **75** e pirrol **11**), são ideais para a obtenção majoritária das porfirinas *cis* A_2B_2 e *trans* A_2B_2 , sendo que a porfirina *trans* é obtida sempre em maior quantidade que a porfirina *cis*. Isto ocorre, possivelmente, devido a questões estéricas associadas ao complexo mecanismo de reação para formação do macrociclo.



1. Metodologia de Rothermund (1936): piridina, 220 °C, 48 h.
2. Metodologia de Adler, *et al.*, (1967): ácido propiônico, refluxo, 30 min.
3. Metodologia de Lindsey, *et al.*, (1967): Etapa1: diclorometano, 25 °C, ácido trifluoroacético ou trifluoreto de boro, 30 min. Etapa 2: 2,3-diclo-5,6-dicianobenzoquinona (DDQ), 1 h.

Esquema 17: Metodologias de síntese de porfirinas *meso* substituídas.
 FONTE: ROTHERMUNDO (1936), ADLER, *et al.*, (1967), LINDSEY, *et al.*, (1987).

As três metodologias clássicas para síntese de porfirinas *meso* substituídas – Rothermund (1936), Adler e colaboradores (1967) e Lindsey e colaboradores (1987) – utilizam os reagentes (aldeído(s) e pirrol) em proporções e condições ideais para obtenção das quatro configurações mais comuns de porfirinas *meso* substituídas (ESQUEMA 17).

A aplicação da metodologia de Rothermund (1936) para síntese da porfirina A₄, apesar de ser um método bastante simples, gera os produtos em rendimentos muito baixos (inferiores à 5 %). A metodologia de Adler, *et al.*, (1967), para síntese da mesma porfirina A₄, pode levar a rendimentos acima de 20%, contudo apresenta baixa reprodutibilidade de rendimento. Por outro lado, é uma boa metodologia para síntese

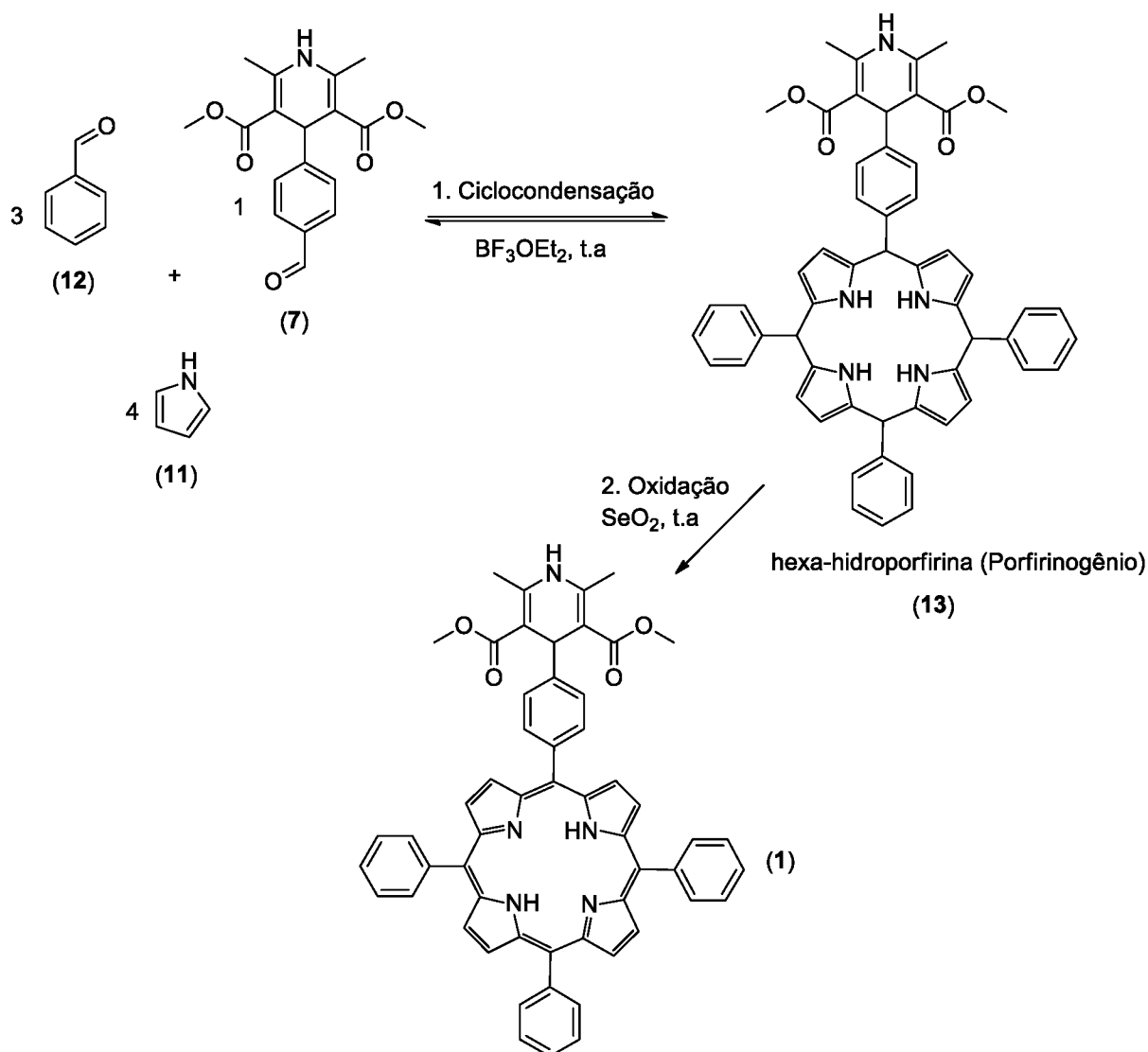
de porfirinas a partir de aldeídos que possuam substituintes contendo átomos com pares de elétrons livres, tais como: oxigênio e nitrogênio. Por fim, a aplicação da metodologia de Lindsey, *et al.*, (1987) para síntese da porfirina A₄ permite atingir rendimentos mais altos, podendo alcançar valores acima de 50%. Apesar desta síntese ser executada em dois passos distintos (ciclocondensação seguida de oxidação), o processo é realizado em um mesmo recipiente sem a necessidade de qualquer procedimento de purificação entre as duas etapas (“two-step, one-flask synthesis”). Este método de síntese pode ser considerado uma evolução na síntese de porfirinas, uma vez que o mesmo é conduzido à temperatura ambiente e na presença de concentrações catalíticas de ácido. Essas condições brandas permitem a utilização de aldeídos sensíveis, o que é praticamente inviável com os métodos anteriores. Entretanto, esta metodologia não gera bons rendimentos com aldeídos que possuam substituintes contendo átomos com pares de elétrons livres.

Para síntese dos híbridos porfirínicos 1,4-di-hidropiridinas (**1–3**) propostos nesse trabalho, foram estudadas as metodologias de Lindsey e colaboradores (1987) e a metodologia de Adler e colaboradores (1967), além da metodologia desenvolvida no laboratório onde o presente trabalho foi executado (LÓ, *et al.*, 2011). A partir do pirrol (**11**), aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**), descrito na seção 5.1.1, e benzaldeído (**12**), nas proporções ideais, foi possível obter três híbridos porfirina-1,4-di-hidropiridina: porfirina A₃B (**1**), a qual possui três substituintes *meso* derivados do benzaldeído (fenil) e um substituinte *meso* 1,4-di-hidropiridina; porfirina *trans*-A₂B₂ (**2**), na qual o anel 1,4-di-hidropiridínico encontra-se em duas posições *meso* opostas; e, por fim, a porfirina A₄ (**4**), a qual possui o anel 1,4-di-hidropiridínico nas quatro posições *meso* da porfirina.

5.2.1 Síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (**1**)

Para a síntese da porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (**1**), foi realizado um breve estudo envolvendo diferentes condições reacionais. Os reagentes foram empregados nas proporções 3:1:4 – benzaldeído (**12**), aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**) e pirrol (**11**) – e foram estudadas as metodologias clássicas de Adler e colaboradores (1967) e Lindsey e colaboradores (1987), sendo que, para esta última foram levadas em consideração as mudanças realizadas por LÓ e colaboradores (2011).

A metodologia de Lindsey e colaboradores (1987), por atingir rendimentos mais altos em condições brandas, foi a primeira metodologia testada. Como explicado anteriormente, ela é realizada em duas etapas, sendo a primeira etapa uma reação de ciclocondensação entre os aldeídos e o pirrol com a formação da hexa-hidroporfirina (porfirinogênio) (13), e a segunda etapa uma reação de oxidação para a formação da porfirina (ESQUEMA 18).



Esquema 18: Metodologia de Lindsey e colaboradores (1987) com modificações para a síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (1).

Lindsey e colaboradores (1987) descreveram que a etapa 1 (reação de ciclocondensação), a qual forma a hexa-hidroporfirina, é uma reação reversível, dependente da concentração do ácido e do tempo de reação. Os autores citados também descreveram as seguintes observações: quando o ácido de Lewis encontra-se diluído ($10^{-2} \text{ mmol.L}^{-1}$) no meio reacional, o rendimento mostra-se maior do que em

condições utilizando o ácido concentrado (10^{-1} mmol.L⁻¹). Adicionalmente, o tempo de ciclocondensação deve ser adequado, de acordo com o aldeído empregado na reação.

Com relação a segunda etapa de reação (oxidação), de acordo com a literatura (REF), o agente oxidante mais comumente empregado é o 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona (DDQ). Contudo, este agente oxidante também tende a oxidar o núcleo di-hidropiridínico, formando a sua piridina correspondente (GUANAES, *et al.*, 2015). Em 2015, Guanaes e colaboradores estudaram diferentes agentes oxidantes para promover a oxidação de 1,4-di-hidropiridinas e *N*-aril-di-hidropiridinas e demonstrou que o dióxido de selênio (SeO₂) não é capaz de promover esta oxidação. Uma vez que neste ponto do presente trabalho visava-se a obtenção do híbrido porfirina com 1,4-di-hidropiridina (e não do híbrido piridina), foi empregada a modificação feita por Ló e colaboradores (2011) na etapa oxidativa da síntese de porfirinas. Neste caso utiliza-se o SeO₂, um agente oxidante heterogêneo, o qual é capaz de oxidar a hexa-hidroporfirina na sua porfirina correspondente, sem afetar a porção di-hidropiridina.

A TABELA 4 mostra as condições testadas para a obtenção da porfirina A₃B (**1**). Na entrada 1 foi utilizado BF₃OEt₂ concentrado (10^{-1} mmol.L⁻¹) como catalisador da reação de condensação, e dióxido de selênio (SeO₂) como agente oxidante, obtendo-se rendimento de menos de 1%, após purificação em coluna cromatográfica. Na entrada 2, a mistura reacional foi diluída usando BF₃OEt₂ em uma concentração de 10^{-2} mmol.L⁻¹. Esta condição demonstrou uma melhora no rendimento, atingindo 2%. Nas entradas 3, 4 e 5 foi fixado o BF₃OEt₂ na concentração de 10^{-2} mmol.L⁻¹, modificando apenas o tempo de reação de condensação. A melhor condição reacional foi obtida na entrada 3 com 5% de rendimento. Vale ressaltar, que mesmo empregando a proporção 3:1:4 dos reagentes (3 equivalentes de benzaldeído e 1 equivalente do aldeído 1,4-di-hidropiridina, 4 equivalentes de pirrol) para formar, majoritariamente, a porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (**1**), é possível a formação minoritária das porfirinas A₄ (tetrafenilporfirina -TPP), *cis* e *trans* A₂B₂, contudo em todas as tentativas foi observado apenas a formação da tetrafenilporfirina (TPP) e da porfirina A₃B (**1**).

| Entrada | Concentração de BF ₃ EtO ₂ (mmol.L ⁻¹) | Tempo (h) ^b | Rendimento (%) ^c | Rendimento global (%) ^d |
|----------------|--|------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|
| 1 ^a | 10 ⁻¹ | 1 | 0,9 | 0,4 |
| 2 ^a | 10 ⁻² | 1 | 2,0 | 1,0 |
| 3 ^a | 10 ⁻² | 2 | 5,0 | 2,5 |
| 4 ^a | 10 ⁻² | 3 | 3,2 | 1,6 |
| 5 ^a | 10 ⁻² | 4 | 3,0 | 1,5 |

^a Primeira etapa: pirrol (**11**) (1 mmol), benzaldeído (**12**) (0,75 mmol), aldeído 1,4-di-hidropiridina (**7**) (0,25 mmol), BF₃.OEt₂ como catalisador em diclorometano como solvente, diferentes tempos^b de ciclocondensação. Segunda etapa: SeO₂ (10 mmol) por 1 hora.

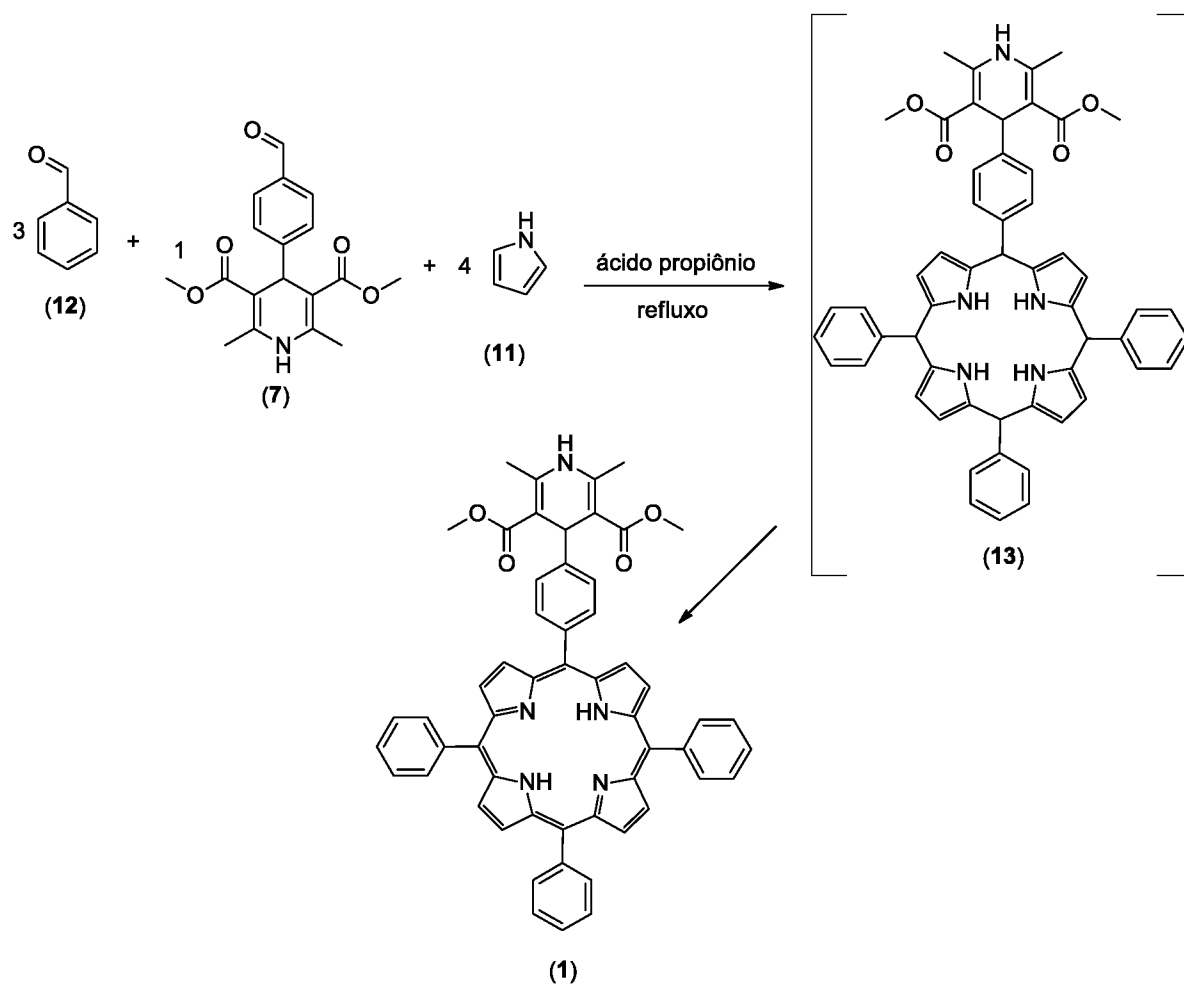
^b Tempos da primeira etapa.

^c Rendimento calculado após purificação por coluna cromatográfica.

^d Rendimento global calculado a partir da síntese do aldeído-1,4-di-hidroporfirina (**7**).

Tabela 4 Otimização da a síntese de porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (**1**) baseando-se nas condições de Lindsey, *et al* (1987) e Ló, *et al* (2011).

A segunda metodologia testada para obter a porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B foi aquela relatada por Adler e Longo (ADLER *et al.*, 1967) em que as porfirinas são sintetizadas em uma única etapa em ácido propiônico. Assim como a metodologia de Lindsey e colaboradores (1987), a condição de Adler *et al.* (1967) pode formar até quatro porfirinas diferentes (tetrafenilporfirina – TPP, A₃B, *trans*-A₂B₂, *cis*-A₂B₂). Assim, a adequação da proporção entre os reagentes é imprescindível para que seja formado, preferencialmente, a porfirina A₃B. Para o presente trabalho, foram utilizados os reagentes na proporção 3:1:4, sendo 3 equivalentes de benzaldeído (**12**), 1 equivalente do aldeído 1,4-di-hidropiridina (**7**) e 4 equivalentes de pirrol (**11**) (ESQUEMA 19).



Esquema 19: Metodologia de Adler e colaboradores (1987) para a síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (1).

Como mostrado na Tabela 5 (ENTRADAS 1–4) foram testados quatro tempos de reação diferentes: 30 min, 1 h, 2 h e 3 h. O melhor rendimento foi obtido em 2 h com rendimento de 12% (ENTRADA 3). Este resultado corrobora com outros artigos que demonstraram que a síntese de porfirinas com aldeídos que contém átomos com pares de elétrons livre, por exemplo, nitrogênio e oxigênio, são obtidos com maiores rendimentos pela metodologia de Adler e colaboradores (1967) do que pela metodologia em duas etapas de Lindsey e colaboradores (1987).

| Entrada | Tempo (h) | Rendimento (%) ^b | Rendimento global (%) ^c |
|----------------|-----------|-----------------------------|------------------------------------|
| 1 ^a | 0,5 | 1,5 | 0,7 |
| 2 ^a | 1 | 9,0 | 4,5 |
| 3 ^a | 2 | 12,0 | 6,0 |
| 4 ^a | 3 | 7,0 | 3,5 |

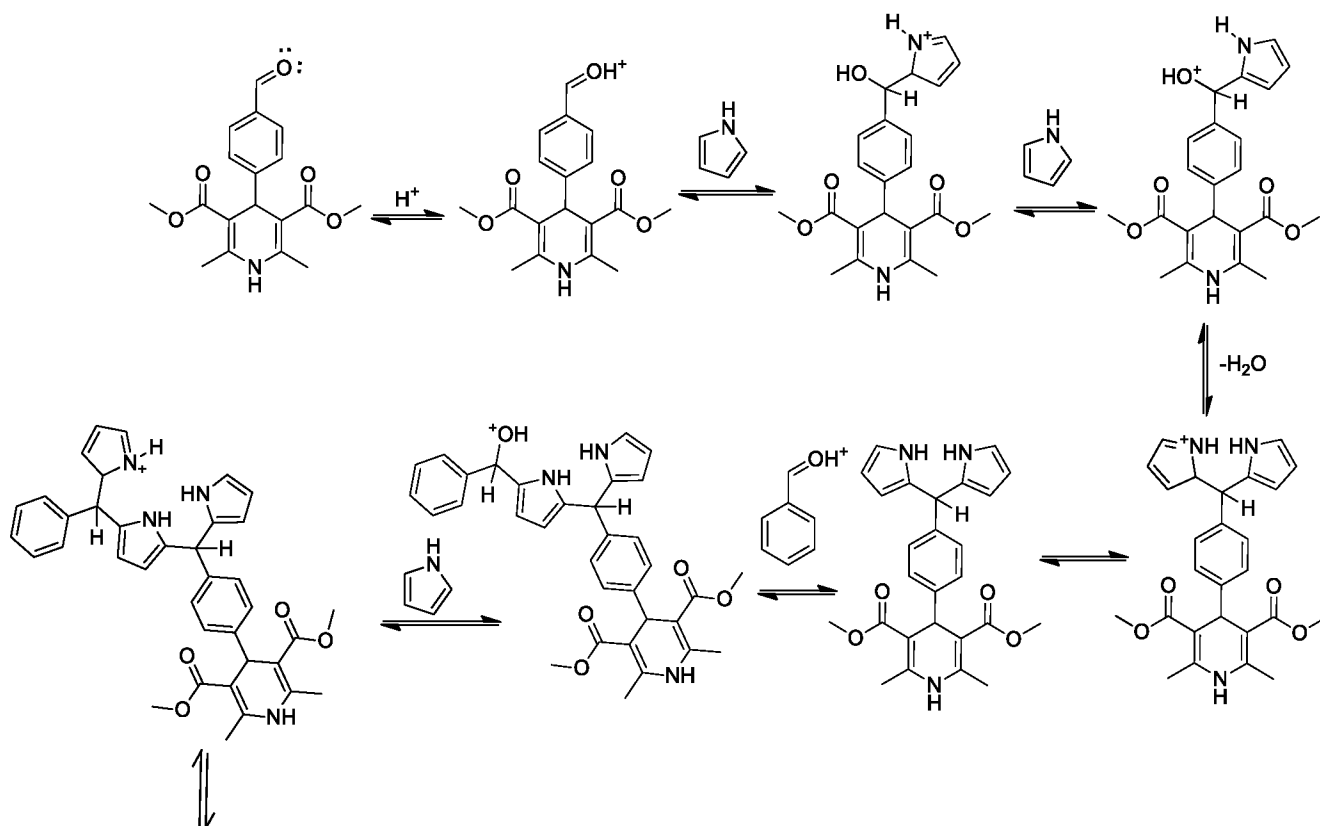
^a pirrol (1 mmol), benzaldeído (0,75 mmol), aldeído 1,4-di-hidropiridina (**7**) (0,25 mmol), ácido propiônico (50 mmol) por diferentes tempos^b em refluxo.

^bRendimento calculado após purificação por coluna cromatográfica.

^cRendimento global calculado a partir da síntese do aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**)

Tabela 5: Otimização de síntese da porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (**1**) baseando-se nas condições de Adler *et al*, (1967).

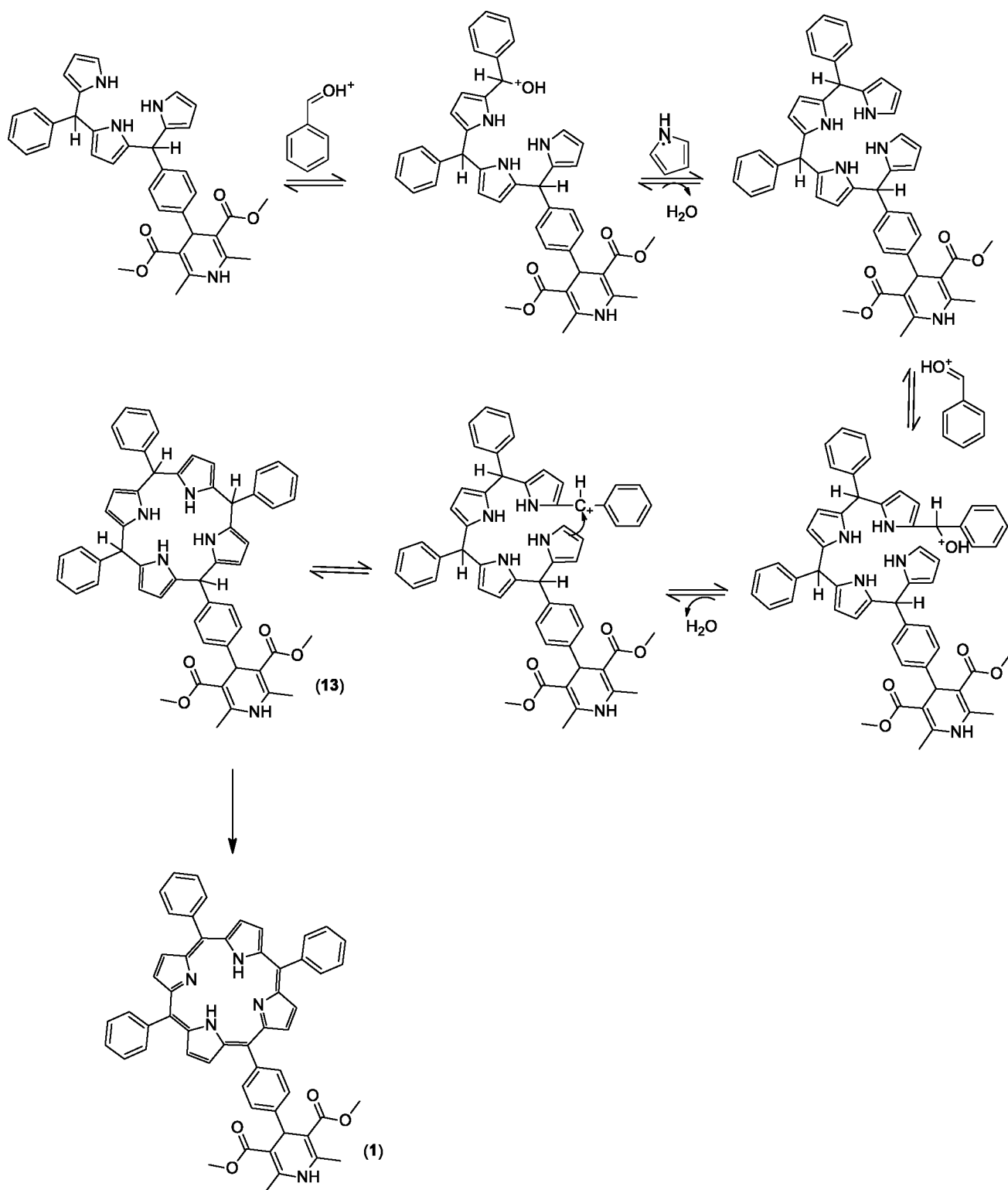
Como pôde ser observado na TABELA 5, o conceito de tempo ideal para a síntese de porfirinas, também se aplica à metodologia de Adler e colaboradores (1967). Isto ocorre, pois assim que o produto de ciclocondensação (porfirinogênio **13**) é formando *in situ*, e o mesmo é imediatamente oxidado em porfirina, uma vez que essa reação ocorre em meio ácido sob condições aeróbicas. O ESQUEMA 20 traz uma proposta de mecanismo de reação para formação do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (**1**).



continua

Esquema 20: Mecanismo de reação da síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (**1**).

Continuação:

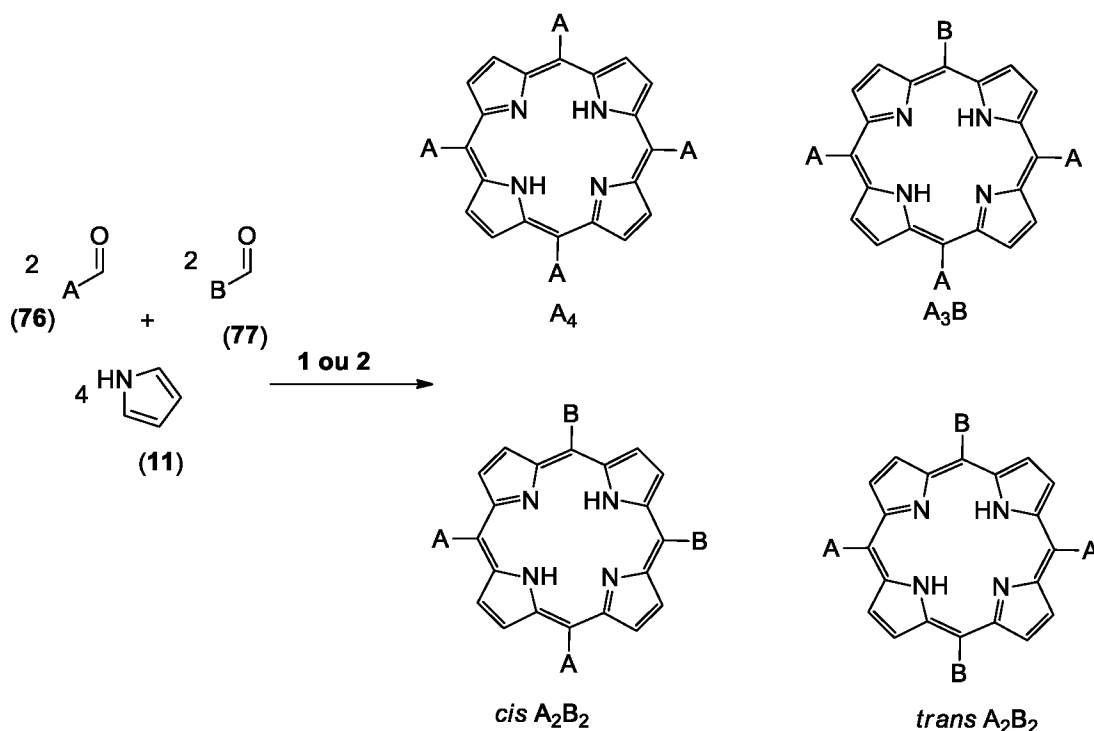


Esquema 20: Mecanismo de reação proposto da síntese do híbrido porfirina-1,4-dihidropiridina A3B (1).

A síntese do composto (**1**) foi comprovada por meio de quatro técnicas analíticas: espectrometria de RMN de ^1H , espectrometria de RMN de ^{13}C , espectrofotometria no Infravermelho e espectrometria de massas de alta resolução. A caracterização detalhada do composto (**1**) está descrita na seção 5.4.2.1 desta tese.

5.2.2 Síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina *trans*-A₂B₂ (**2**)

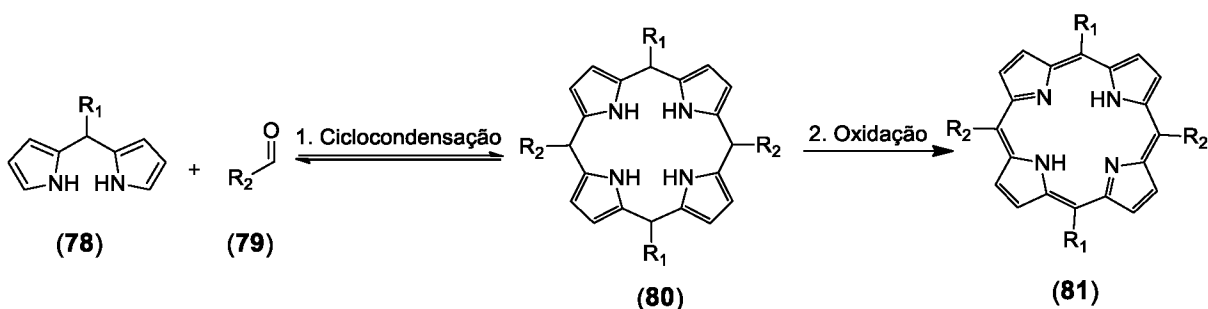
De acordo com a literatura, as principais metodologias para síntese de porfirinas A₂B₂ baseiam-se no emprego da proporção 2:2:4 (2 equivalentes do aldeído (**76**), 2 equivalentes do aldeído (**77**) e 4 equivalentes de pirrol (**11**)) por meio de ambas as metodologias clássicas de Adler e colaboradores (1967) ou Lindsey e colaboradores (1987). Nesta proporção de reagentes obtêm-se, majoritariamente, as porfirinas *cis* e *trans*-A₂B₂, contudo, devido ao mecanismo de reação complexo e a questões estéricas, pode ocorrer o favorecimento na formação da porfirina *trans* em detrimento da porfirina *cis*. Outro fato importante, é que, apesar de ocorrer a formação majoritária da porfirina *trans*, podem ser formadas adicionalmente as porfirinas A₄ e a A₃B (ESQUEMA 21).



1. Metodologia de Adler e colaboradores (1967): ácido propiônico, refluxo
2. Metodologia de Lindsey e colaboradores (1987): Etapa1) BF_3OEt_2 , diclorometano, t.a. Etapa 2) Agente oxidante, t.a.

Esquema 21: Metodologias clássicas para síntese da porfirina *trans*- A_2B_2

Em 1994, Lee e Lindsey estudaram a síntese de dipirrometanos (**78**) para aplicação na síntese de porfirinas *trans*-substituídas (**81**). Esta síntese consiste em reagir o dipirrometano (**78**) com um aldeído (**79**), em quantidades equimolares, em meio ácido com solvente orgânico, formando preferencialmente o porfirinogênio *trans*-substituído (**80**), o qual, em uma segunda etapa da síntese, é oxidado a porfirina *trans*-substituída (**81**) (ESQUEMA 22).

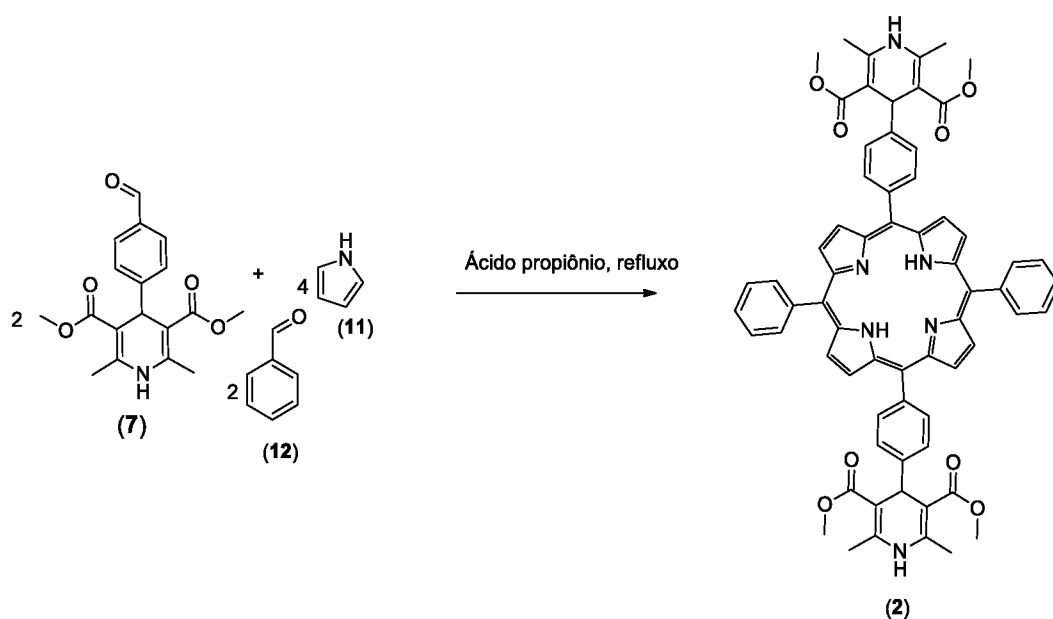


Esquema 22: Síntese da porfirina *trans*- A_2B_2 via dipirrometano.

A fim de se determinar a melhor metodologia de síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina *trans*- A_2B_2 **2** foram estudadas duas metodologias. A primeira

metodologia testada foi a síntese clássica de Adler e colaboradores (1967), empregando a proporção 2:2:4 dos reagentes (ESQUEMA 21, 1). A segunda, consistiu naquela que envolve a formação prévia do intermediário-chave dipirrometano (ESQUEMA 22) (LEE, LINDSEY, 1994).

A TABELA 6 traz as condições testadas e os rendimentos obtidos ao empregar a metodologia de Adler e colaboradores (1967). Os reagentes foram empregados nas proporções 2:2:4, sendo 2 equivalentes de benzaldeído (**12**), 2 equivalentes do aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**), 4 equivalentes de pirrol, em ácido propiônico sob refluxo. Foram testados diferentes tempos (ENTRADAS 1-4), uma vez que existe o tempo ideal de formação da porfirina devido a reversibilidade da ciclocondensação para formação do macrociclo.



| Entrada | Tempo (h) | Rendimento (%) ^b (2) | Rendimento global (%) ^c (2) |
|----------------|--------------|--|---|
| 1 ^a | 1 | traços | - |
| 2 ^a | 2 | 4,0 | 2 |
| 3 ^a | 4 | 10,0 | 5 |
| 4 ^a | 6 | 8,0 | 4 |

^a pirrol (1 mmol), benzaldeído (0.5 mmol), aldeído 1,4-di-hidropiridina (**7**) (0.5 mmol), ácido propiônico (50 mmol) por diferentes tempos^b em refluxo.

^bRendimento calculado após purificação por coluna cromatográfica.

^cRendimento global calculado a partir do aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**).

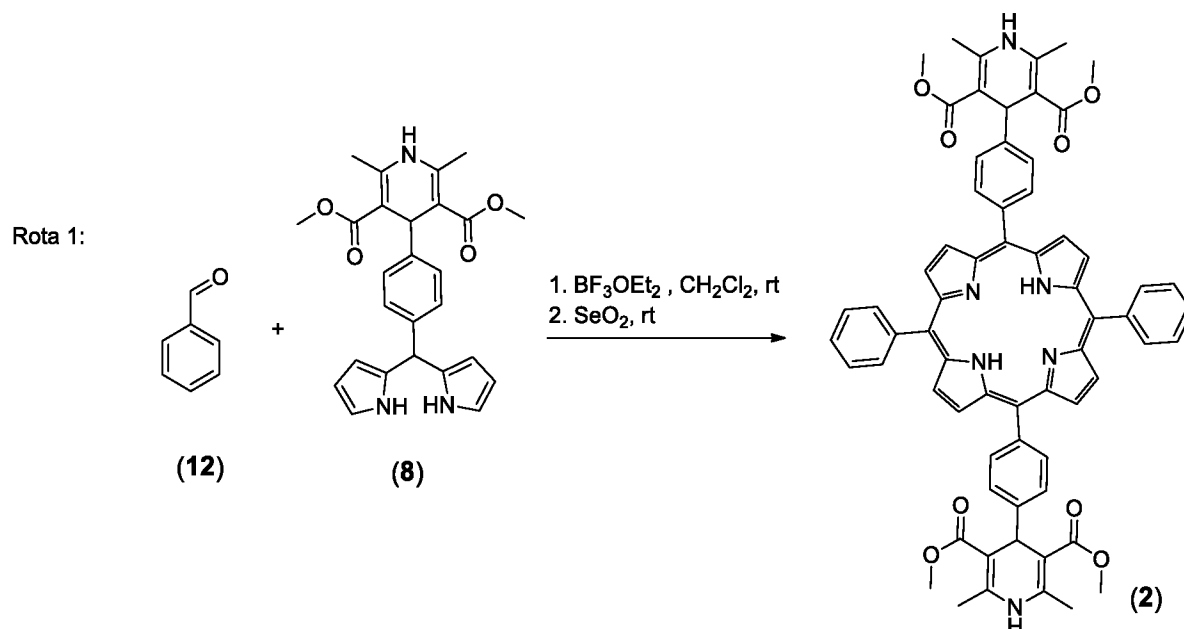
Tabela 6: Otimização da síntese da porfirina-1,4-di-hidropiridina *trans*-A₂B₂ (**2**).

Na entrada 3 (TABELA 6), na qual a reação ocorreu por 4 h, foi obtido o maior rendimento para a porfirina-1,4-di-hidropiridina *trans*-A₂B₂, (10%). Também foi observada a formação de outras duas porfirinas: tetrafenilporfirina (TPP, 2,0%) e porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (**1**) (3,5%). Não foi observada a formação da porfirina *cis*-A₂B₂, possivelmente, devido ao maior volume do aldeído 1,4-di-hidropiridina (**7**) quando comparado ao benzaldeído.

A segunda metodologia testada, a qual baseia-se nos trabalhos de Lee e Lindsey (1994), foi realizada em duas etapas distintas (ciclocondensação e oxidação). A primeira etapa consiste na etapa mais crítica da reação, pois a mesma se trata de uma ciclocondensação reversível; logo diferentes tempos e diferentes concentrações do ácido de Lewis foram testados para determinar a condição ideal de formação do macrociclo (hexa-hidroporfirina/porfirinogênio). A segunda etapa trata-se de uma reação irreversível de oxidação. O agente oxidante escolhido foi o dióxido de selênio, pois ele é eficiente na oxidação do macrociclo, porém não ocasiona a oxidação do anel di-hidropiridínico.

A TABELA 7 traz as condições testadas. Na entrada 1 foi empregada a condição descrita por Lee e Lindsey (1994), a qual consiste em utilizar quantidade equimolares do dipirrometano (**8**) e do aldeído (**12**), em diclorometano, com o ácido de Lewis (BF₃OEt₂) na concentração de 10⁻² mmol.L⁻¹, por uma hora, seguido pela oxidação. Nesta condição foi observado apenas traços da porfirina de interesse.

Nas entradas 2 e 3 foram testadas condições com o BF₃EtO₂ na concentração de 10⁻¹ mmol/L, porém com tempos diferentes. Em ambos os casos não foi possível obter uma quantidade expressiva da porfirina **2**. Na entrada 4 foi empregado o BF₃OEt₂ na concentração de 10⁻² mmol/L por 2 horas. Nesta condição foi possível obter o híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina *trans*-A₂B₂ com 3% de rendimento. Na entrada 5 foi fixada a concentração de BF₃OEt₂ em 10⁻² mmol.L⁻¹, porém com o tempo de 4 horas obtendo o melhor rendimento (8%).



| Entrada | BF_3OEt_2 (mmol.L ⁻¹) | Tempo (h) ^b | Rendimento (%) (2) | Rendimento global (%) (2) |
|----------------|--|---------------------------|---------------------------|-------------------------------------|
| 1 ^a | 10 ⁻² | 1 | traços | - |
| 2 ^a | 10 ⁻¹ | 0,5 | traços | - |
| 3 ^a | 10 ⁻¹ | 1 | traços | - |
| 4 ^a | 10 ⁻² | 2 | 3,0 % | 0,6 |
| 5 ^a | 10 ⁻² | 4 | 8,0 % | 1,6 |

^a Primeira etapa: benzaldeído (**(42)**) (1 mmol), *meso*-1,4-di-hidropiridina dipirrometano (**(8)**) (1 mmol), BF_3OEt_2 como catalisador em diferentes tempos^b em diclorometano como solvente. Segunda etapa: SeO_2 (10 mmol) por 1 hora.

^b Tempos da primeira etapa

^c Rendimento calculado após purificação por coluna cromatográfica

Tabela 7: Otimização da síntese da porfirina *trans*-A₂B₂ via dipirrometano.

Ao comparar os rendimentos de síntese da porfirina **(2)** nas melhores condições via metodologia de Adler e colaboradores (1967) (ENTRADA3, TABELA 6) e via dipirrometano (ENTRADA 5, TABELA 7), não há uma diferença considerável, sendo 10% e 8%, respectivamente. Contudo, os rendimentos globais apresentaram diferença, sendo 5 % e 1,6 % respectivamente. Diante disso, a síntese da porfirina **(2)** foi considerada mais vantajosa na condição via metodologia de Adler e colaboradores (1967).

Foi comprovada a síntese do composto **(2)** por meio de quatro técnicas analíticas: espectrometria de RMN de ¹H, espectrometria de RMN de ¹³C,

espectrofotometria no Infravermelho e espectrometria de massas de alta resolução. A caracterização detalhada do composto (**2**) está descrita na seção 5.4.2.2 desta tese.

5.2.3 Síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A₄ (**3**)

A síntese da porfirina A₄ é considerada a mais fácil, uma vez que é utilizado apenas um aldeído e o pirrol, conseqüentemente, formando apenas oligômeros e uma única porfirina. Foram testadas diversas condições de síntese porfirinas, desde as metodologias clássicas (ROTHERMUND, 1935; ADLER, *et al.*, 1967, LINDSEY, *et al.*, 1987) até as metodologias desenvolvidas por colegas no laboratório (LÓ, *et al.*, 2011; DALLAGNOL, *et al.*, 2014). Contudo, devido as características químicas do aldeído (**7**), apenas a síntese clássica de Adler colaboradores (1967) em ácido propiônico foi a única metodologia que mostrou-se efetiva para a síntese da porfirina-1,4-di-hidropiridina (A₄) (**3**).

Para alcançar o melhor rendimento de síntese da porfirina **3**, foi necessário a otimização do tempo de reação, uma vez que já havia sido observado que a obtenção de porfirinas com o aldeído 1,4-di-hidropiridina (**7**) era dependente do tempo de reação, devido ao complexo mecanismo reversível da ciclocondensação, do volume espacial do aldeído-1,4-di-hidropiridina e da presença dos átomos doadores de elétrons (oxigênio e nitrogênio) no aldeído, o que podem diminuir a carga parcialmente positiva do carbono carbonílico do aldeído, dificultando o ataque nucleofílico dos elétrons *pi* (π) do pirrol.

A TABELA 8 traz os tempos de reação testados, sendo a entrada 1 (30 minutos) a reprodução das condições originais de Adler e colaboradores (1967), para a síntese da porfirina tetrapiridil (ESQUEMA 25), realizada com quantidades equimolares de 4-piridinacarboxialdeído e pirrol em ácido propiônico, sob refluxo. Contudo, nesta condição não foi possível observar a formação da porfirina (**3**). Todas as reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada, utilizando cromatoplaça de sílica e fase móvel clorofórmio/acetona (9:1). A escolha da fase móvel baseou-se nas condições cromatográficas utilizadas por Vandresen e colaboradores (2016).

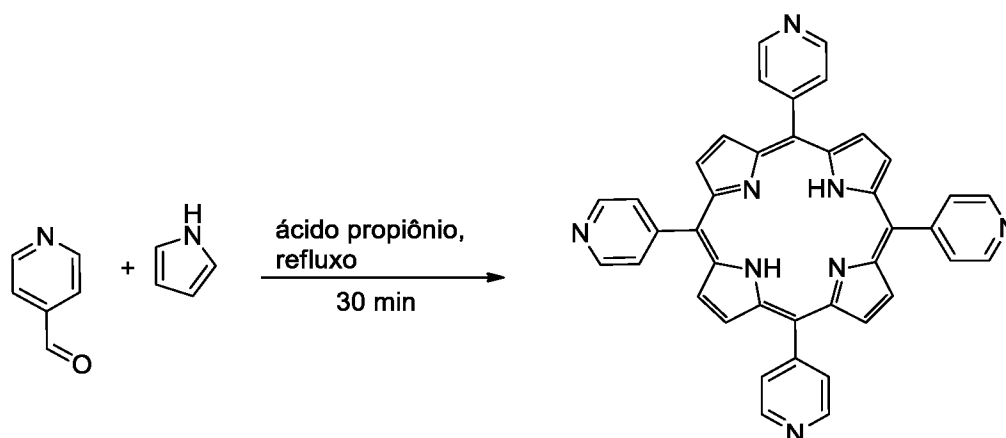
| Entrada | Tempo (h) | Rendimento (%) (3) ^b | Rendimento global (%) (3) ^c |
|----------------|-----------|--|---|
| 1 ^a | 0,5 | - | - |
| 2 ^a | 2 | traços | - |
| 3 ^a | 4 | 1,7 % | 0,8 |
| 4 ^a | 6 | 4,0 % | 2,0 |
| 5 ^a | 8 | 4,0 % | 2,0 |
| 6 ^a | 12 | 1,5 % | 0,75 |

^a pirrol (1 mmol), aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**) (1 mmol), ácido propiônico (50 mmol) por diferentes tempos sob refluxo.

^bRendimento calculado após cromatografia em coluna.

^cRendimento global calculado a partir do aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**)

Tabela 8: Otimização da síntese de porfirina-1,4-di-hidropiridina A₄ (**3**).



Esquema 23: Síntese da porfirina tetrapiridil por Adler e colaboradores (1967)
 FONTE: ADLER, *et al.*, 1967

Como descrito na entrada 2 (TABELA 8), após 2 horas de reação foram detectados apenas traços da porfirina. Baseando-se no tempo ideal para síntese da porfirina *trans*-A₂B₂ (**2**) (ENTRADA 3, TABELA 6), uma reação de 4 h (TABELA 8, ENTRADA 3) foi realizada. Após purificação em coluna cromatográfica e caracterização por Ressonância Magnética Nuclear de ¹H, foi calculado o rendimento de 1,7% para a porfirina **3**. Nas entradas 4 e 5, com tempos reacionais de 6 e 8 h, respectivamente, o rendimento obtido foi de 4%, para ambos os casos, indicando que a reação de ciclocondensação do macrociclo, possivelmente, tinha atingido um ponto de equilíbrio favorável para a formação do porfirinogênio correspondente. Para

confirmar essa suposição, as condições das entradas 4 e 5 foram repetidas algumas vezes, sempre alcançando-se rendimentos próximos a 4 %. Também foi avaliado o tempo reacional de 12 h (ENTRADA 6), o que equivaleria a uma reação *overnight*, contudo é possível verificar que o rendimento da reação cai para 1,5%. A entrada 4 foi considerada a melhor condição para realizar a síntese do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A₄ (**3**), pois apresentou um rendimento reprodutível, em um tempo reacional de fácil controle e acompanhamento no laboratório.

A estrutura química do composto (**3**) foi confirmada por meio de três técnicas analíticas: espectrometria de RMN de ¹H, espectrometria de RMN de ¹³C e espectrometria de massas de alta resolução. A caracterização detalhada do composto (**3**) encontra-se descrita na seção 5.4.2.3 desta tese.

5.3 Síntese dos híbridos porfirina-piridina A₃B (**4**), *trans*-A₂B₂ (**5**) e A₄ (**6**)

Os híbridos porfirina-1,4-di-hidropiridinas A₃B (**1**), *trans*-A₂B₂ (**2**) e A₄ (**3**), cujos resultados de síntese foram discutidos na seção 5.2, tiveram seus núcleos di-hidropiridínicos oxidados aos seus respectivos derivados piridínicos (**4**), (**5**) e (**6**). Esta estratégia visou garantir análogos estruturais que pudessem ser comprados quanto aos perfis fotofísicos.

A aromatização oxidativa das 1,4-di-hidropiridinas tem atraído a atenção de pesquisadores de diversas áreas desde o final do século XIX. Esse interesse reside basicamente na possibilidade de investigar o mecanismo de transferência de hidreto promovido pela coenzima NADH (JIA, *et al.*, 2014), bem como devido à grande importância terapêutica das di-hidropiridinas e seus produtos oxidados, as piridinas (HILL, 2010).

Inúmeros protocolos dedicados à oxidação de 1,4-di-hidropiridinas foram desenvolvidos, nos quais estão incluídos o uso de vários oxidantes. Para citar alguns exemplos, nitrato de amônio e cério (GUZMAN, *et al.*, 1990), 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinoxil radical livre (TEMPO) (DONDONI, *et al.*, 2003), dióxido de magnésio (HANKOVSKY, *et al.*, 1991), tetraclore-1,4 benzoquinona (GOLDMANN, *et al.*, 1990), permanganato de potássio (KARAMI, *et al.*, 2005) e 2,3-dicloro-5,6-diciano-benzoquinona (DDQ) (CHEN, *et al.*, 2011) têm sido utilizados para esse fim. A maioria destes métodos mostrou ser adequada para a produção das correspondentes

piridinas e este fato está relacionado com a facilidade de transferência de hidreto das 1,4-di-hidropiridinas. Dentre os agentes oxidantes citadas acima, o DDQ é amplamente empregado para aromatização oxidativa de 1,4-di-hidropiridinas, uma vez que essas reações ocorrem com rendimentos de 80 a 100% (GUANAES, 2015).

Diante disso, o agente oxidante para aromatização dos híbridos porfirina-1,4-di-hidropiridinas (**1–3**) escolhido foi o 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ). Foram utilizadas quantidades estequiométricas de DDQ, de acordo com o número de 1,4-di-hidropiridinas que cada porfirina continha. Logo, para a porfirina A₃B (**1**), que possui apenas um núcleo di-hidropiridínico, foi empregado 1 equivalente de DDQ. Para a porfirina *trans*-A₂B₂ (**2**), que possui dois núcleos di-hidropiridínicos, foram empregados 2 equivalentes de DDQ, e por fim, para a porfirina A₄ (**3**) que possui quatro núcleos di-hidropiridínicos, foram empregados 4 equivalentes de DDQ.

Todas as reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada, sendo observado que, em todos os casos, após uma hora de aromatização oxidativa não havia mais material inicial, sendo formado a porfirina-piridina correspondente com poucos subprodutos. Cada uma das porfirinas-piridinas (**4–6**) foi purificada em coluna cromatográfica de sílica gel e caracterizadas por Ressonância Magnética Nuclear, a fim de confirmar a formação dos compostos desejados e calcular seus respectivos rendimentos.

A TABELA 9 traz os rendimentos da aromatização oxidativa e o rendimento global da síntese das porfirinas-piridinas (**4–6**), sendo o último calculado a partir da síntese do aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**). Os rendimentos de aromatização oxidativa obtidos são compatíveis com os encontrados na literatura (GUANAES, 2015). Não foi observada perda significativa de rendimento das porfirinas, uma vez que é sabido que o DDQ em contato por muito tempo com anel porfirínico pode levar a degradação do mesmo, formando inúmeros subprodutos (DALLAGNOL, 2014).

| Entrada | Porfirina-piridina | Rendimento (%) ^a | Rendimento global (%) ^b |
|---------|--|-----------------------------|------------------------------------|
| 1 | A ₃ B (4) | 80 | 4,8 |
| 2 | <i>Trans</i> -A ₂ B ₂ (5) | 70 | 3,5 |
| 3 | A ₄ (6) | 98 | 2,0 |

^aRendimento calculado após cromatografia em coluna.

^bRendimento global calculado a partir do aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**)

Tabela 9: Rendimentos das sínteses dos híbridos porfirina-piridina (4-6).

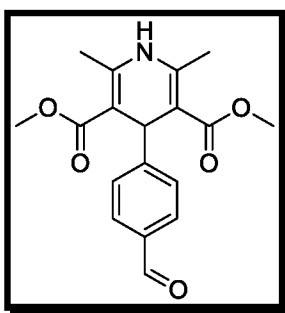
As estruturas químicas dos compostos **4–6** foram confirmadas por meio de quatro técnicas analíticas: espectrometria de RMN de ^1H , espectrometria de RMN de ^{13}C , espectrofotometria no Infravermelho e espectrometria de massas de alta resolução. A caracterização detalhada dos compostos **4–6** estão descritas nas seções 5.4.3.1, 5.4.3.2 e 5.4.3.3 desta tese.

5.4 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS

Todos os compostos sintetizados foram submetidos as análises de RMN de ^1H e ^{13}C . Nos casos em que não foi possível atribuir todos os carbonos pelo experimento de RMN de ^{13}C , como por exemplo os compostos porfirínicos, foram realizados as análises bidimensionais de correlação direta H-C (HSQC) e correlação a longa distância H-C (HMBC). Os compostos sintetizados também foram submetidos as análises de espectrofotometria no Infravermelho e determinação da massa molecular por espectrometria de massas em alta resolução.

5.4.1 Caracterização dos intermediários-chave **7** e **8**

5.4.1.1 Aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**)



A obtenção do composto (**7**) foi confirmada principalmente por seus espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C . O espectro de RMN de ^1H de **7** (FIGURA 22) apresentou

um simpleto em δ 9,93 ppm relativo ao hidrogênio da função aldeído. Em δ 8,99 ppm, foi observado um simpleto relativo ao hidrogênio ligado ao nitrogênio H-N'. Em δ 7,80 ppm observa-se um sinal relativo a dois hidrogênios aromáticos (C'-H), na forma de um duplete ($J = 7,77$ Hz). Em δ 7,40 ppm pôde ser observado um sinal relativo a dois hidrogênios aromáticos (C'-H), na forma de um duplete ($J = 7,77$ Hz). Em δ 5,01 ppm, um simpleto característico para os compostos com núcleo di-hidropiridínico foi observado, sendo este relativo ao hidrogênio do carbono 4 (C4'-H) do anel di-hidropiridínico. Por fim, os dois simpletos δ 3,58 ppm e δ 2,31 ppm são relativos a doze hidrogênios, sendo seis hidrogênios dos grupos metilas da função éster (posições 3' e 5') e seis hidrogênios dos grupos metilas das posições 2' e 6' do anel di-hidropiridínico, respectivamente. Todas as atribuições são compatíveis com as atribuídas por Teng e colaboradores (2008), que realizou a síntese e a caracterização do composto **7** pela primeira vez.

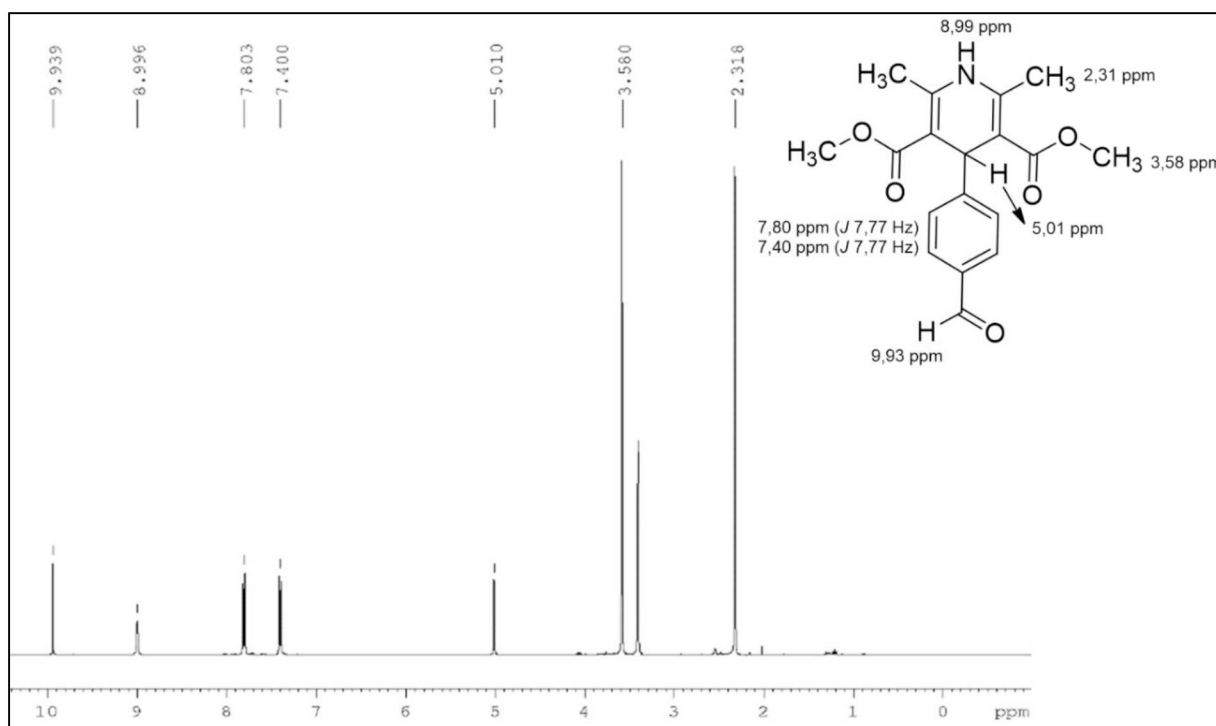


Figura 22: Espectro de RMN de ^1H do aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**). (DMSO- d_6 , 200,12 MHz, padrão interno: DMSO)

No espectro de RMN de ^{13}C de **7** (FIGURA 23) o sinal δ 168,1 ppm foi designado como sendo o carbono carbonílico da função orgânica éster (C3). Observou-se a presença de cinco sinais (δ 129,2 ppm; δ 128,4 ppm; δ 128,0 ppm; δ

127,6 ppm; δ 126,2 ppm) distintos relativos aos carbonos aromáticos. O sinal em δ 144,1 ppm foi atribuído ao carbono aromático C4, por apresentar maior deslocamento químico pela blindagem decorrente da proximidade da função aldeído. Os sinais em δ 147,43 ppm e δ 103,96 ppm foram designados como sendo os carbonos C2'/C6' e C3'/C5' do anel di-hidropiridínico, respectivamente, sendo esta atribuição baseada nos mapas de correlação HSQC (FIGURA 24) e HMBC (FIGURA 25). O sinal em δ 39,33 ppm foi designado ao carbono C4' do anel di-hidropiridínico. Esta designação está de acordo com outros trabalhos dedicados à síntese e caracterização de di-hidropiridinas (TENG, KONG, LIU, 2008; DUCATTI, 2009; GUANAES, 2015). O sinal δ 50,96 foi atribuído aos carbonos dos grupos metila da função éster (C2). Por fim, o sinal δ 19,57 ppm foi atribuído aos carbonos dos grupos metilas (C1).

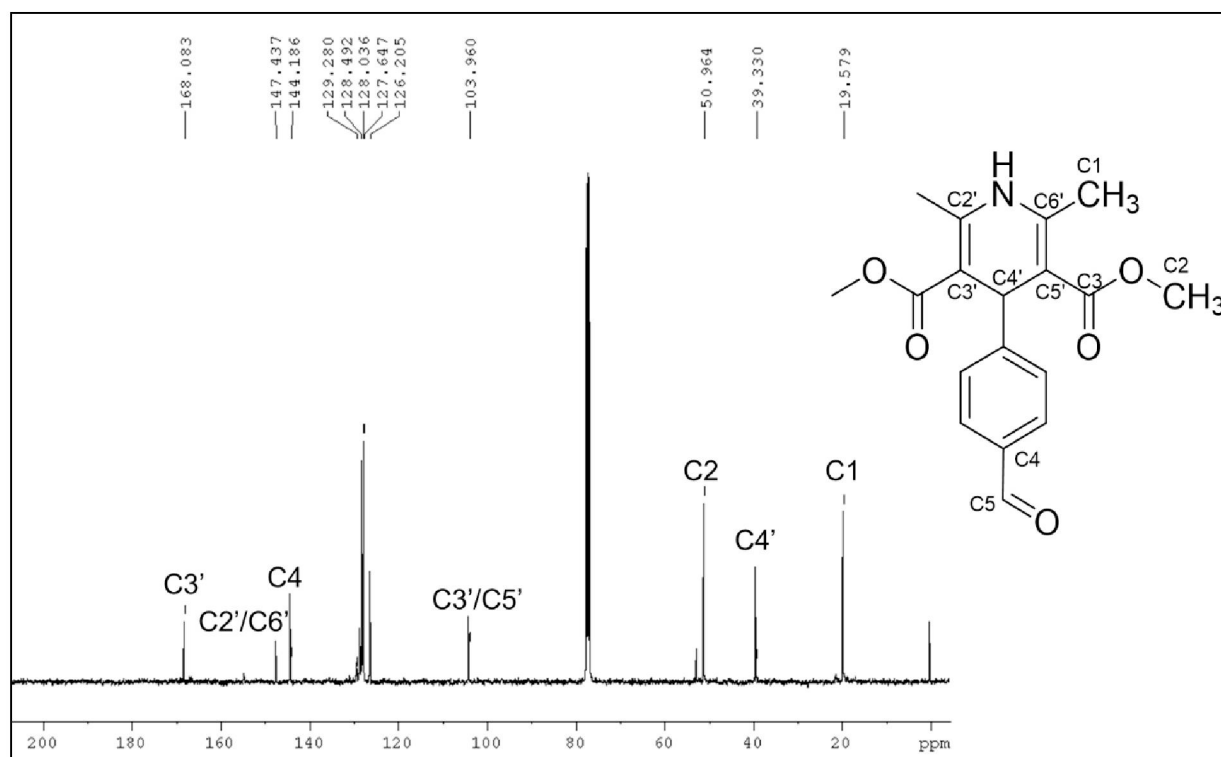


Figura 23: Espectro de RMN de ^{13}C do aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**). (DMSO- d_6 , 100,62 MHz, padrão interno: TMS)

O deslocamento químico do carbono carbonílico da função aldeído (C5) só foi possível de ser designado pelo mapa de correlação direta C-H (HSQC) (FIGURA 24), sendo o sinal δ 193,20 ppm.

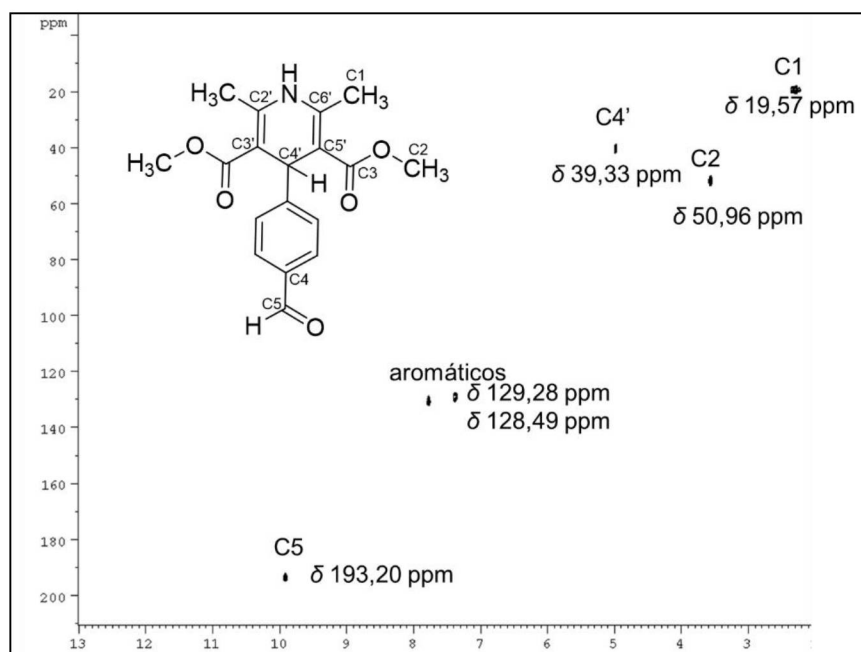


Figura 24: Mapa de correlação direta H-C (HSQC) do aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**). (DMSO- d_6 , 400,5 MHz, padrão interno: TMS)

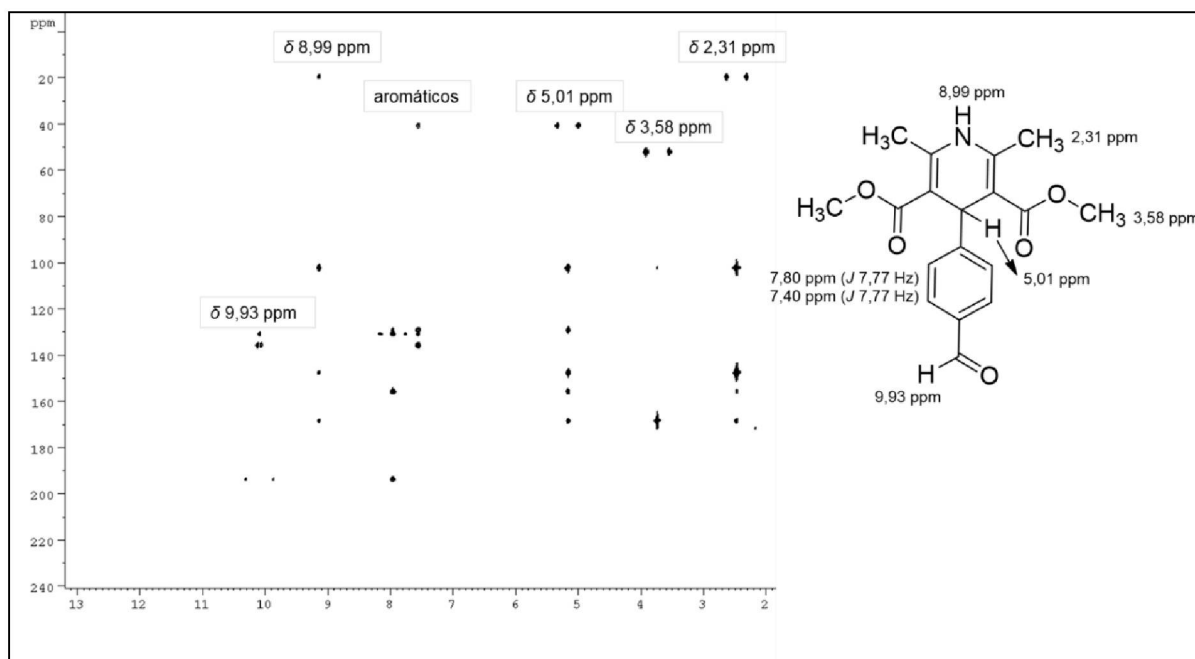


Figura 25: Mapa de correlação a longa distância H-C (HMBC) do aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**). (DMSO- d_6 , 400,5 MHz, padrão interno: TMS)

A fórmula molecular do composto **7** foi comprovada por meio da análise no espectrômetro de massas Bruker MicroTOF-Q II XL, sendo a fonte de ionização eletrospray. A massa molecular do composto **7** monoprotonado calculada $[M+H]^+$ foi

de 330,1341 Da ($C_{18}H_{19}NO_5$), e a massa encontrada foi 330,1347 Da, com erro de $1,8 \cdot 10^{-12}$ (FIGURA 26).

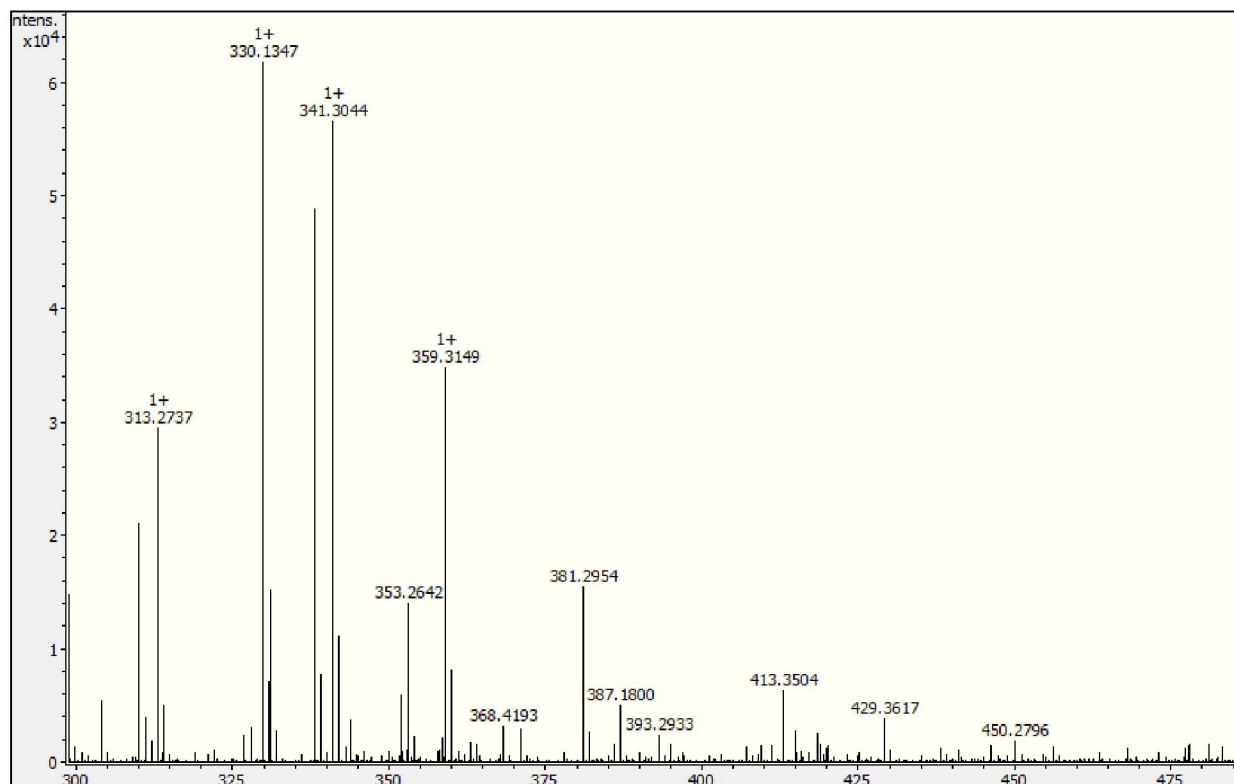


Figura 26: Espectro de massas do aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**). (Composto **7** na concentração de 100 ng.mL^{-1} em acetonitrila e água 80:2, modo positivo)

O espectro de absorção na região do infravermelho do composto **7** foi interpretado com o auxílio da literatura (PAVIA, *et al.*, 2010; LOPES, FACIO, 2004; GUANAES, *et al.*, 2015). Foi observada a banda de estiramento da ligação N-H em 3358 cm^{-1} , a banda de estiramento da ligação C-H do carbono C4' em 2951 cm^{-1} , a qual é caracteristicamente encontrada nos espectros de absorção de núcleos di-hidropiridínicos. Por fim, a banda de estiramento da ligação C=O da função orgânica éster foi localizada em 1693 cm^{-1} (FIGURA 27).

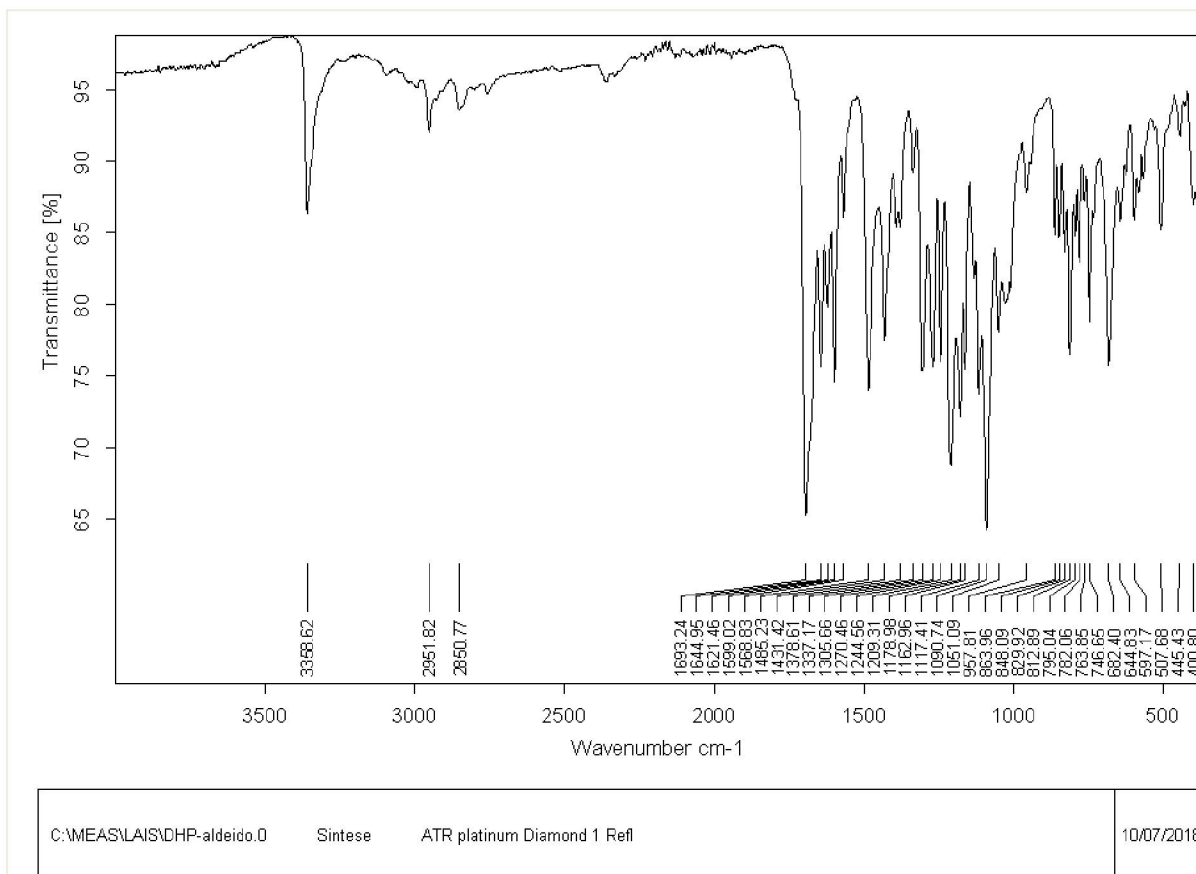
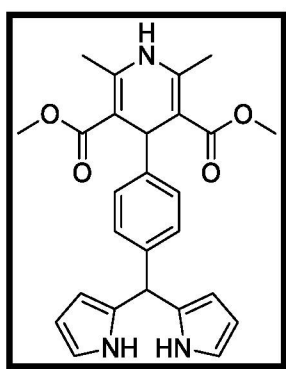


Figura 27: Espectro de absorção na região do infravermelho do aldeído-1,4-di-hidropiridina (**7**).

5.4.1.2 *meso*-1,4-di-hidropiridina dipirrometano (**8**)



A obtenção do composto (**8**) foi confirmada principalmente por seus espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C . O espectro de RMN de ^1H de **8** (FIGURA 28) apresentou um simpleto δ 10,50 ppm relativo aos dois hidrogênios ligados aos nitrogênios pirrólicos (N-H) pirrólicos. Em δ 8,86 ppm foi observado um simpleto relativo ao

hidrogênio ligado ao nitrogênio (N'-H) do anel di-hidropiridínico. No intervalo entre $\delta 7,08$ - $\delta 7,00$ ppm observou-se um multipeto relativo aos quatro hidrogênios aromáticos (C'-H). Em $\delta 6,61$ ppm, um sinal relativo a dois hidrogênios α -pirrólicos (C1-H1), na forma de um duplo duplete ($J = 5,5$ Hz, $J = 4,8$ Hz) foi observado. O *simpleto alongado* em $\delta 5,91$ ppm refere-se aos dois hidrogênios β -pirrólicos (C3-H3). O *simpleto* em $\delta 5,29$ ppm foi assinalado ao hidrogênio *meso* (C5-H5). Em $\delta 4,89$ ppm observou-se um sinal característico de os compostos com núcleo di-hidropiridínico, pois este *simpleto* é relativo ao hidrogênio do carbono 4 (C4'-H) do anel di-hidropiridínico. Por fim, os dois *simpletos* $\delta 3,58$ ppm e $\delta 2,28$ ppm foram atribuídos as doze hidrogênios, sendo seis hidrogênios dos grupos metilas da função éster (posições 3' e 5') e seis hidrogênios dos grupos metilas das posições 2' e 6' do anel di-hidropiridínico, respectivamente. As atribuições dos sinais foram feitas de acordo com outros autores que sintetizaram e caracterizaram outros dipirrometanos (METIN, *et al.*, 2008; LÓ, *et al.*, 2013).

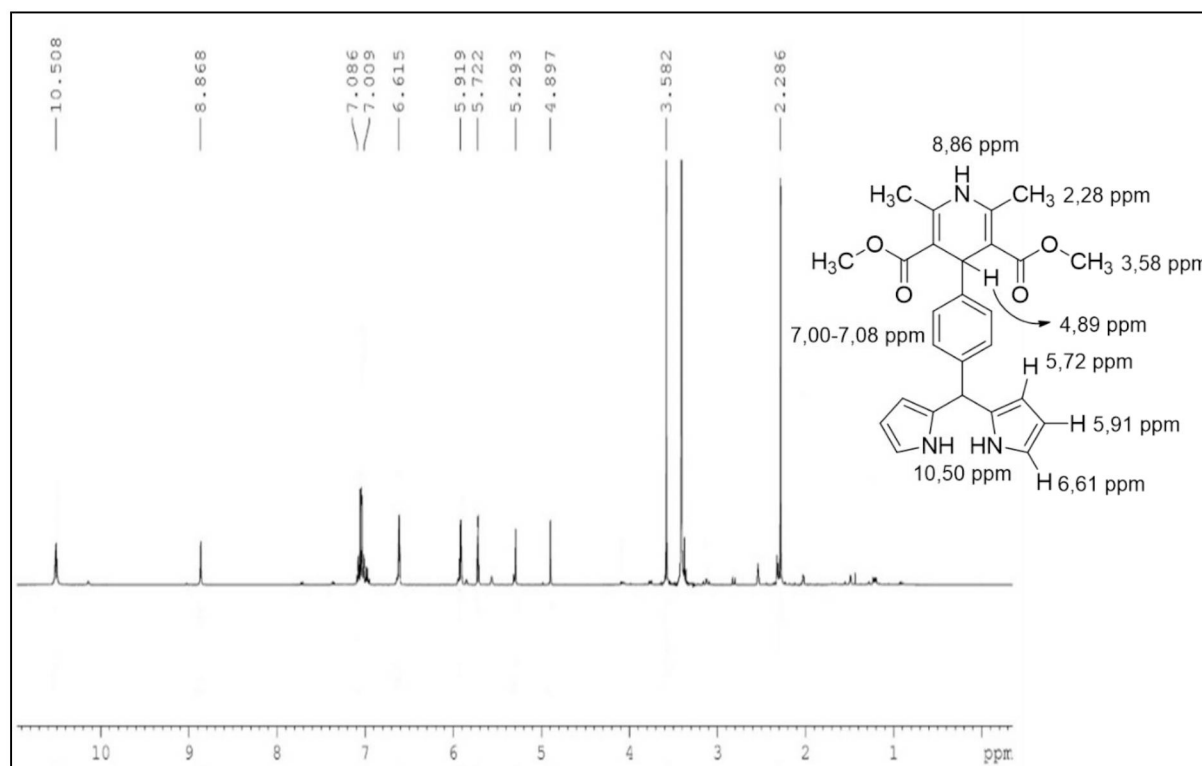


Figura 28: Espectro de RMN de H^1 do *meso*-1,4-di-hidropiridina dipirrometano (**8**). (DMSO- d_6 , 400,2 MHz, padrão interno: TMS)

No espectro de RMN de ^{13}C de **8** (FIGURA 29), para fins didáticos, serão representados, primeiramente, os sinais atribuídos ao núcleo 1,4-di-hidropiridínico. O sinal δ 171,01 ppm foi atribuído ao carbono carbonílico da função orgânica éster (C8'). Os sinais em δ 127,08 ppm e 102,36 ppm foram designados como sendo os carbonos C2'/C6' e C3'/C5' do anel di-hidropiridínico, respectivamente. O sinal em 43,52 ppm foi designado ao carbono C4' do anel di-hidropiridínico. O sinal em 50,96 foi atribuído aos carbonos dos grupos metila da função éster (C9'). Por fim, o sinal em 19,57 ppm foi atribuído aos carbonos dos grupos metilas (C7'). Estas atribuições foram baseadas em outros trabalhos que sintetizaram e caracterizaram compostos com anéis di-hidropiridínicos (TENG, KONG, LIU, 2008; DUCATTI, 2009; GUANAES, 2015).

Os sinais em 167,95 ppm, 146,29 ppm, 133,62 ppm e 142,41 ppm foram atribuídos, respectivamente, aos carbonos aromáticos C10', C11', C12' e C13'. Com relação ao núcleo dipirrometano, observou-se o sinal em 60,27 ppm atribuído ao carbono *meso* (C5). Os sinais em 128,10 ppm, 106,45 ppm, 107,26 ppm e 117,28 ppm foram atribuídos, respectivamente, aos quatro carbonos pirrólicos: C4, C3, C2 e C1. Estas atribuições foram baseadas no trabalho de Metin e colaboradores (2008), que sintetizaram e caracterizaram por RMN os carbonos de um dipirrometano funcionalizado.

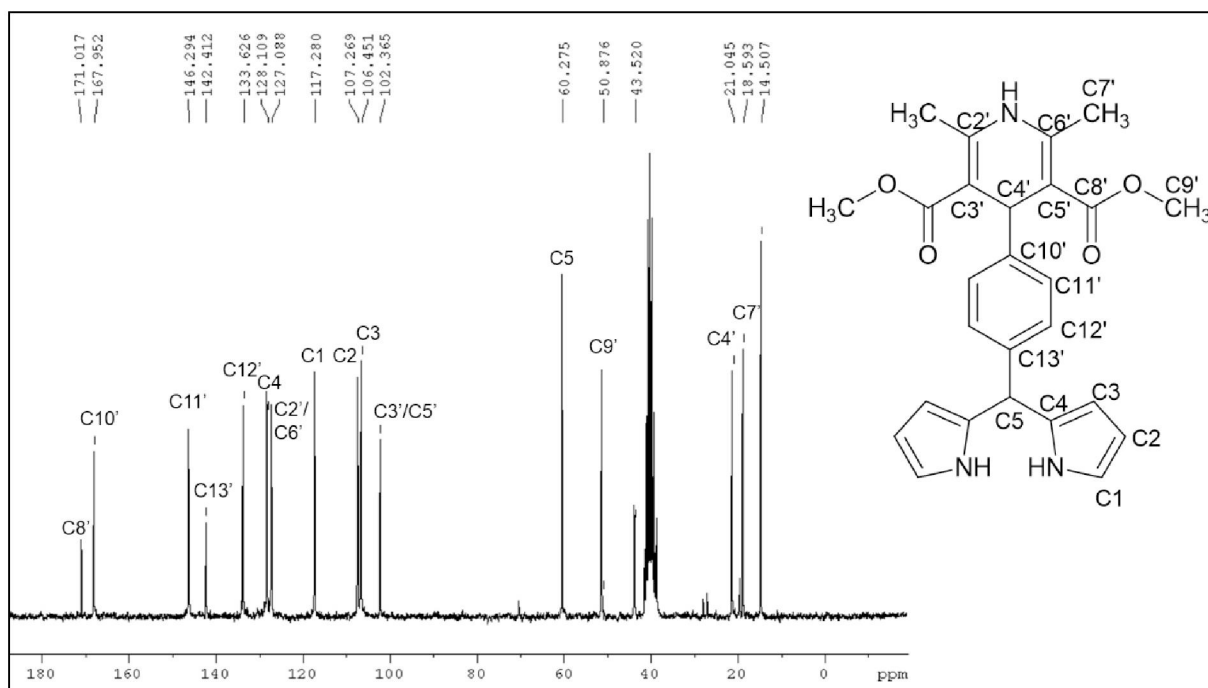


Figura 29: Espectro de RMN de ^{13}C do *meso*-1,4-di-hidropiridina dipirrometano (**8**). (DMSO- d_6 , 400,2 MHz, padrão interno: TMS)

A fórmula molecular do composto **8** foi confirmada por meio da análise no espectrômetro de massas Bruker MicroTOF-Q II XL, sendo a fonte de ionização eletrospray. A massa molecular como aduto de sódio $[M+Na^+]$ calculada foi de 468,1893 Da ($C_{26}H_{27}N_3O_4$), e a massa encontrada foi 468,1818 Da (FIGURA 30), com erro de $1,6 \cdot 10^{-11}$ ppm.

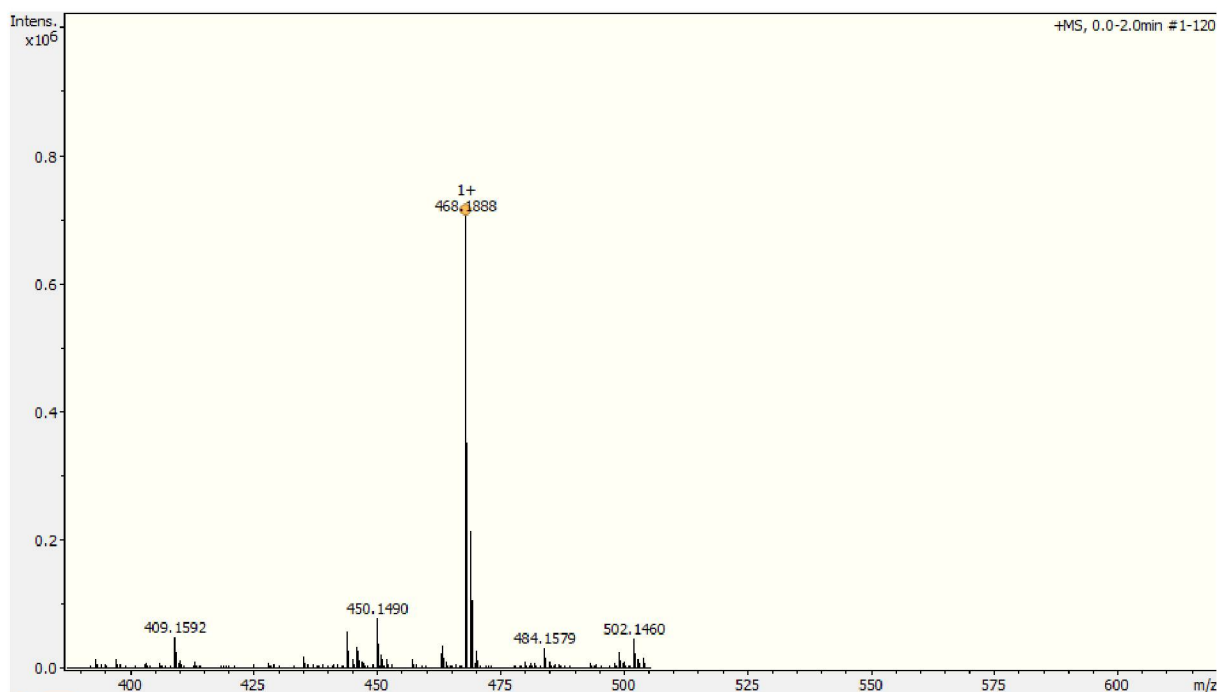


Figura 30: Espectro de massas do *meso*-1,4-di-hidropiridina (**8**). (Composto **8** na concentração de 100 ng.mL^{-1} em acetonitrila e água 80:2, modo positivo)

O espectro de absorção na região do infravermelho do composto (**8**) foi interpretado com o auxílio da literatura (PAVIA, *et al.*, 2010; METIN, *et al.*, 2008; GUANAES, *et al.*, 2015). Foi observada a banda de estiramento da ligação N-H em 3341 cm^{-1} e a banda de estiramento da ligação C-H do carbono C4', em 2948 cm^{-1} , a qual é característica nos espectros de absorção de núcleos di-hidropiridínicos. Em 1682 cm^{-1} , a banda de estiramento da ligação C=O da função orgânica éster foi observada. Por fim, em 1094 cm^{-1} e 884 cm^{-1} , foram observadas as duas bandas de deformação das ligações N-H e CH do anel pirrólicos (FIGURA 31).

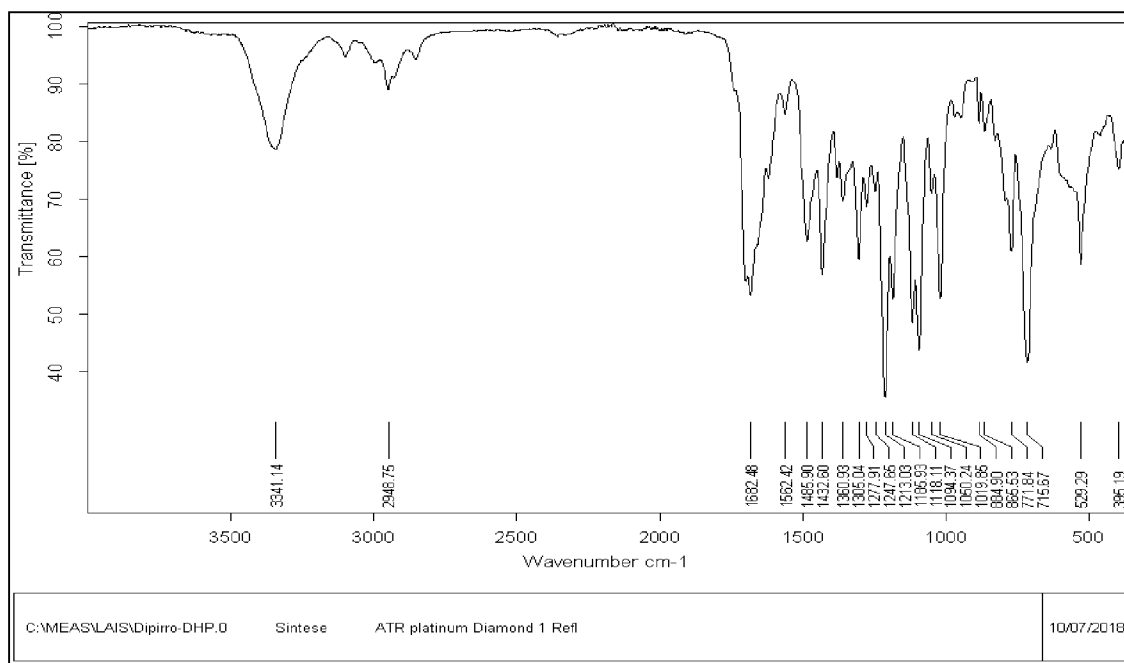
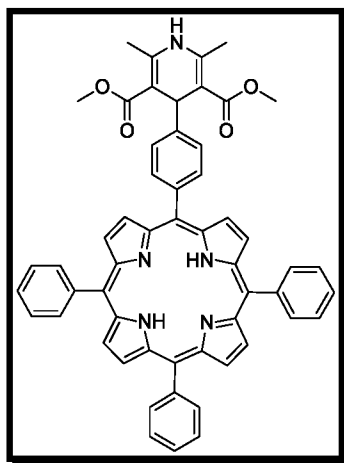


Figura 31: Espectro de absorção na região do Infravermelho do *meso*-1,4-dihidropiridina dipirrometano (**8**).

5.4.2 Caracterização dos híbridos porfirina-1,4-di-hidropiridina (**1–3**)

5.4.2.1 Porfirina-1,4-di-hidropiridina (**1**)



A obtenção do composto (**1**) foi confirmada principalmente por seus espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C . Para melhor compreensão das atribuições dos sinais dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , serão apresentados primeiro os sinais referentes ao anel di-hidropiridínico presente na posição 5 *meso*, e por fins os sinais do núcleo porfirínico e o anéis aromáticos das demais posições *meso* 10,15 e 20.

No espectro de RMN de ^1H de **1** (FIGURA 32) foram atribuídos os seguintes sinais para o núcleo di-hidropiridínico: o duplete (d) em $\delta 7,97$ ppm ($J = 7,95$ Hz) foi atribuído a dois hidrogênios aromáticos. O duplete (d) em $\delta 8,01$ ppm ($J = 7,95$ Hz) foi atribuído aos outros dois hidrogênios aromáticos. O simpleto em $\delta 5,68$ ppm foi atribuído ao hidrogênio ligado ao nitrogênio (N'-H) do anel di-hidropiridínico. Em $\delta 5,27$ ppm foi observado um sinal característico para os compostos com núcleo di-hidropiridínico, este simpleto é relativo ao hidrogênio do carbono 4 (C4'-H) do anel di-hidropiridínico. Os dois simpletos $\delta 3,74$ ppm e $\delta 2,38$ ppm foram atribuídos aos doze hidrogênios, sendo seis hidrogênios das metilas da função éster (posições 3' e 5') e seis hidrogênios das metilas das posições 2' e 6' do anel di-hidropiridínico, respectivamente.

Com relação ao núcleo porfirínico e aos demais hidrogênios aromáticos, foram atribuídos os seguintes sinais: um multipletto na faixa de 8,71–8,80 ppm foi atribuído aos oito hidrogênios β -pirrólicos (H2/H3). O tripleto (t) em 8,12 ppm foi atribuído à seis

hidrogênios aromáticos. O multipeto na faixa de 7,62–7,71 ppm foi atribuído à nove hidrogênios aromáticos. Por fim, o simpleto em -2,83 ppm referente aos dois hidrogênios ligados aos nitrogênios pirrólicos.

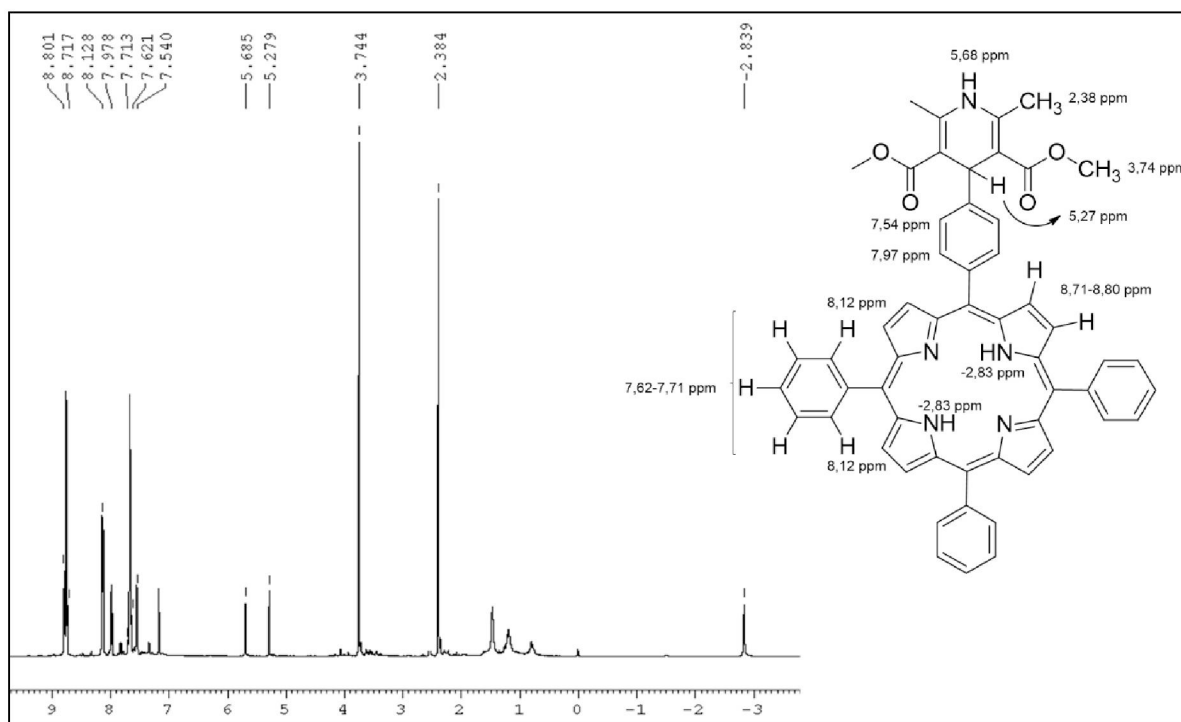


Figura 32: Espectro de RMN de ^1H do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (**1**). (CDCl_3 , 400,2 MHz, padrão interno: TMS)

No espectro de RMN de ^{13}C de **1** (FIGURA 33), as atribuições do núcleo di-hidropiridínico foram: o sinal em 168,88 ppm foi atribuído ao carbono carbonílico da função orgânica éster (C8'). Os sinais em 144,75 ppm e 104,46 ppm foram designados como sendo os carbonos C2'/C6' e C3'/C5' do anel di-hidropiridínico, respectivamente. O sinal em 40,05 ppm foi designado ao carbono C4' do anel di-hidropiridínico. O sinal em 51,53 foi atribuído aos carbonos da metila da função éster (C9'). O sinal em 20,37 ppm foi atribuído aos carbonos das metilas (C7'). Por fim, os sinais em 147,56 ppm, 126,48 ppm, 135,38 ppm e 140,45 ppm foram atribuídos, respectivamente, aos carbonos aromáticos C10', C11', C12' e C13'.

Com relação ao núcleo porfirínico, observou-se o sinal em 120,70 ppm atribuído ao carbono *meso* (C5). O sinal em 131,46 ppm foi atribuído aos dois carbonos β -pirrólicos (C2/C3). O sinal em 142,88 ppm foi atribuído aos dois carbonos α -pirrólicos (C1/C4). O sinal em 140,54 ppm, o mesmo sinal que foi atribuído ao carbono C13', foi atribuído ao carbono C6''. O sinal em 135,38 ppm, que foi atribuído ao carbono C12',

também foi atribuído aos carbonos C1'' e C5''. O sinal em 128,12 ppm foi atribuído aos carbonos C4'' e C2''. Por fim, o sinal em 127,06 ppm foi atribuído ao carbono C3''.

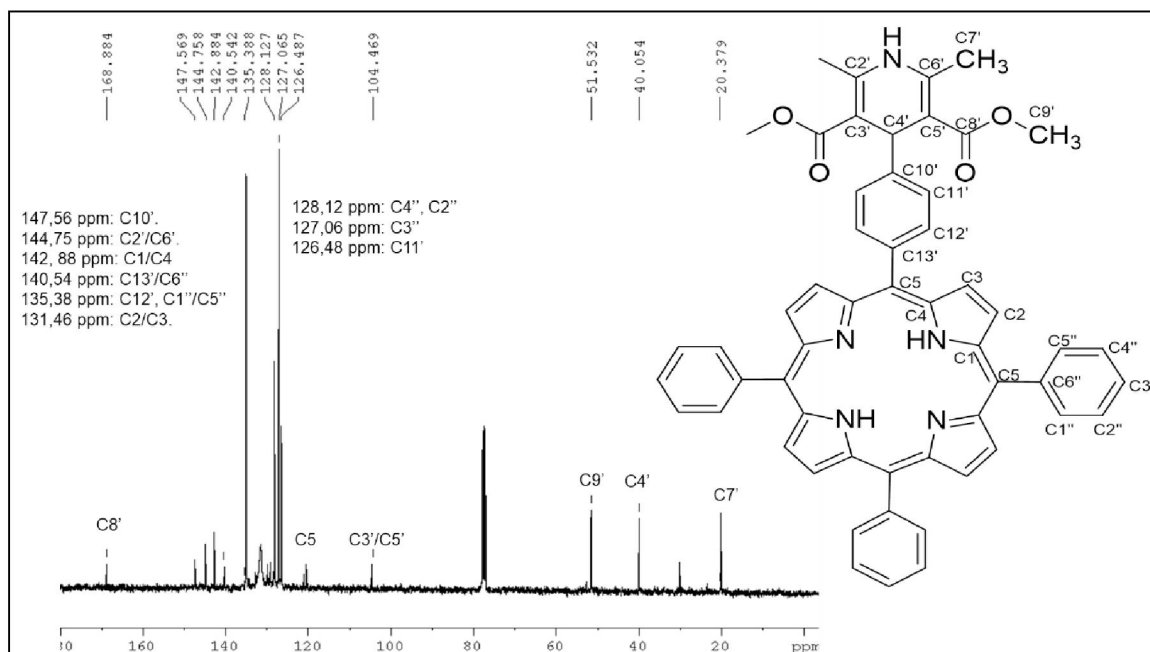


Figura 33: Espectro de RMN de ^{13}C do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (1). (CDCl_3 , 100,26 MHz, padrão interno: TMS)

A fórmula molecular do composto **1** foi confirmada por meio da análise no espectrômetro de massas Bruker MicroTOF-Q II XL, sendo a fonte de ionização eletrospray. A massa molecular calculada do composto **1** diprotonado $[\text{M}+2\text{H}^+]$ foi 839,3460 Da ($\text{C}_{55}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_4$), e a massa encontrada foi 839,3348 Da (FIGURA 34), com erro de $1,3 \cdot 10^{-11}$ ppm.

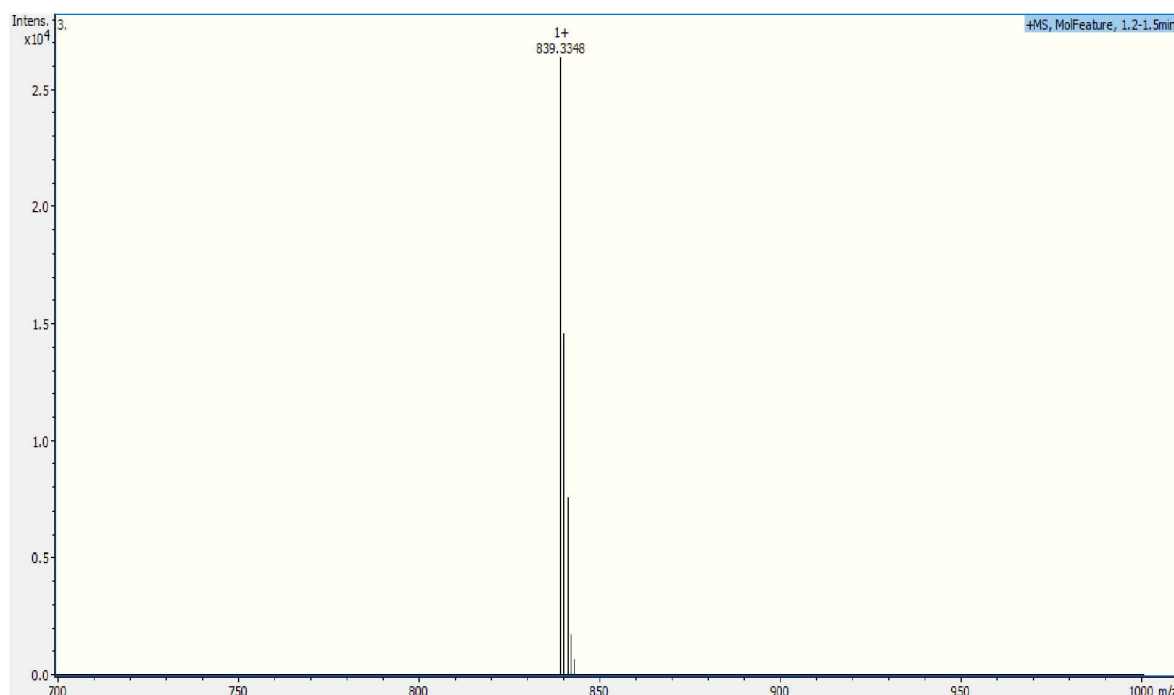


Figura 34: Espectro de Massas da porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (**1**). (Composto **1** na concentração de 100 ng.mL⁻¹ em acetonitrila e água 80:2, modo positivo)

O espectro de absorção na região do infravermelho do composto **1** foi interpretado com o auxílio da literatura (PAVIA, *et al.*, 2010; DALLAGNOL, *et al.*, 2014; GUANAES, *et al.*, 2015). Foi observada a banda de estiramento da ligação N-H em 3318 cm⁻¹, a banda de estiramento da ligação C-H do carbono C4', em 2919 cm⁻¹, a qual é característica nos espectros de absorção de núcleos di-hidropiridínicos. Em 1677 cm⁻¹, a banda de estiramento da ligação C=O da função orgânica éster foi observada. Por fim, em 1098 cm⁻¹ e 876 cm⁻¹, observou-se as duas bandas de deformação das ligações N-H e CH dos anéis pirrólicos (FIGURA 35).

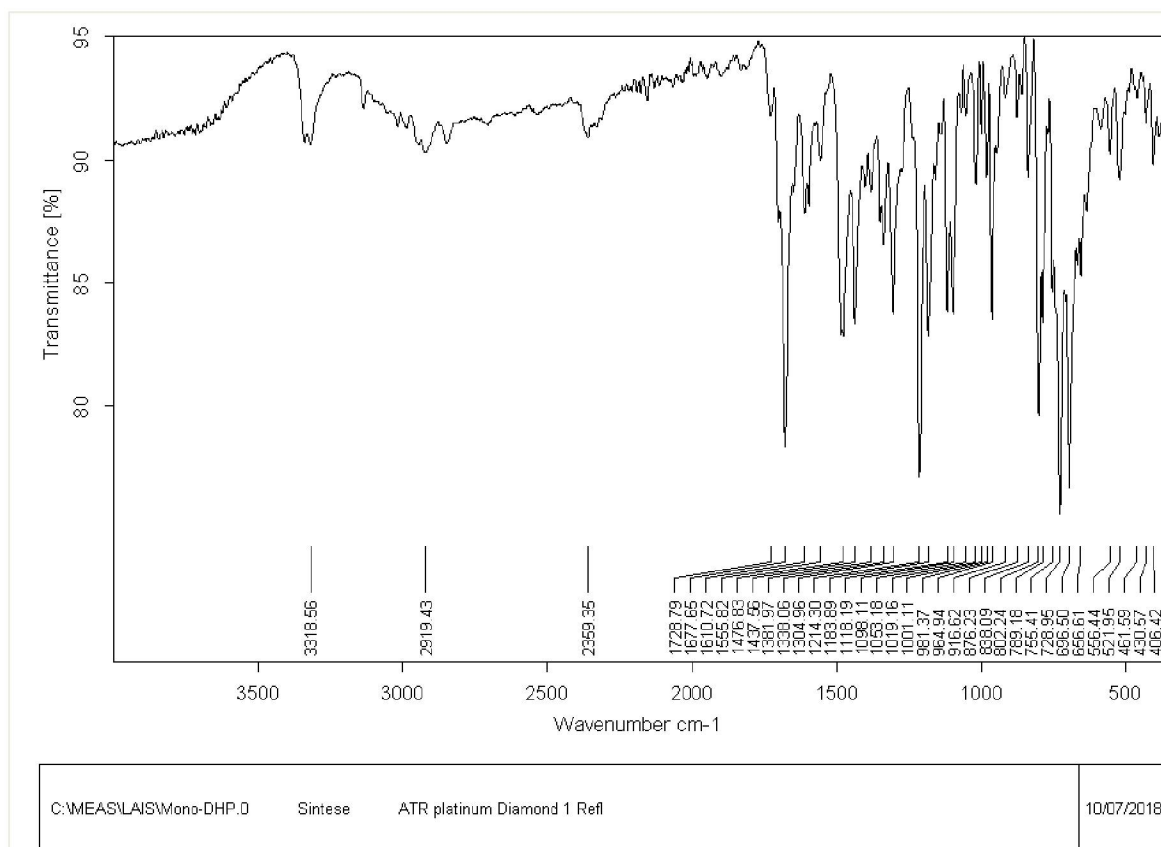
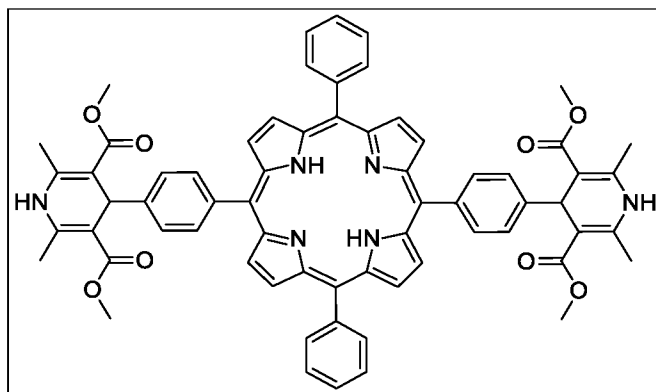


Figura 35: Espectro de absorção na região do Infravermelho da porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B (**1**).

5.4.2.2 Porfirina-1,4-di-hidropiridina *tran*-A₂B₂ (**2**)



A obtenção do composto **2** foi confirmada principalmente por seus espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C . Para melhor compreensão das atribuições dos sinais dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , serão apresentados primeiro os sinais referentes aos anéis di-hidropiridínicos presentes nas posições 5 e 15 *meso*, e por fins os sinais do núcleo porfirínico e os anéis aromáticos das demais posições *meso* 10 e 20.

No espectro de RMN de ^1H de **1** (FIGURA 32) foram atribuídos os seguintes sinais para o núcleo di-hidropiridínico: o duplete (d) em $\delta 7,97$ ppm ($J = 8,0$ Hz) foi atribuído a quatro hidrogênios aromáticos. O duplete (d) em $\delta 7,53$ ppm ($J = 8,0$ Hz) foi atribuído aos outros quatro hidrogênios aromáticos. O simpleto em $\delta 5,71$ ppm foi atribuído aos dois hidrogênios ligados aos nitrogênios (N'-H) do anel di-hidropiridínico. Em $\delta 5,27$ ppm foi observado um sinal característico para os compostos com núcleo di-hidropiridínico, sendo este simpleto relativo aos dois hidrogênios dos carbonos 4 (C4'-H) do anel di-hidropiridínico. Os dois simpletos em $\delta 3,73$ ppm e $\delta 2,37$ ppm foram atribuídos a vinte e quatro hidrogênios, sendo doze hidrogênios das metilas da função éster (posições 3' e 5') e doze hidrogênios das metilas das posições 2' e 6' do anel di-hidropiridínico, respectivamente.

Com relação ao núcleo porfirínico e os demais hidrogênios aromáticos foram atribuídos aos seguintes sinais: um multiplete na faixa de 8,71–8,80 ppm foi atribuído aos oito hidrogênios β -pirrólicos (H2/H3). O tripleto (t) em 8,12 ppm foi atribuído aos quatro hidrogênios aromáticos. O multiplete na faixa de 7,61–7,70 ppm foi atribuído aos seis hidrogênios aromáticos. Por fim, o sinal em -2,84 ppm foi atribuído aos hidrogênios ligados aos nitrogênios do núcleo porfirínico.

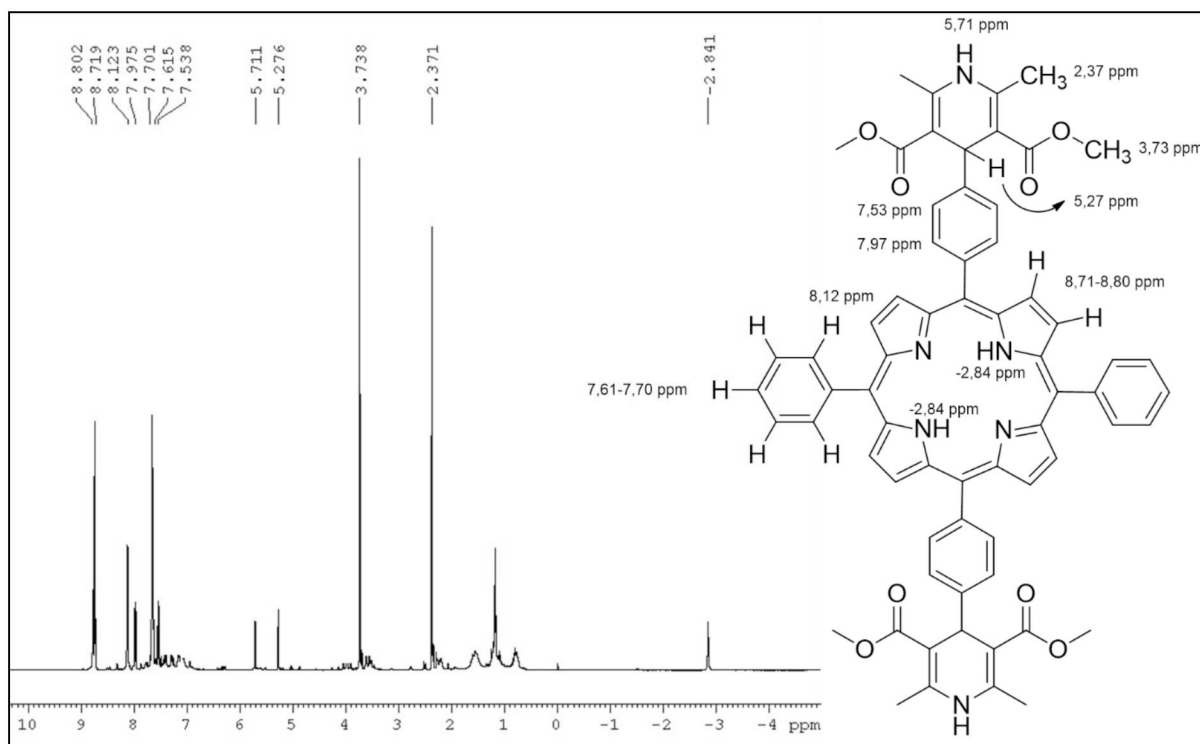


Figura 36: Espectro de RMN de ^1H da porfirina-1,4-di-hidropiridina *trans*-A₂B₂ (**2**). (CDCl_3 , 400,2 MHz, padrão interno: TMS)

No espectro de RMN de ^{13}C de **2** (FIGURA 37), os carbonos atribuídos ao núcleo di-hidropiridínico foram: o sinal δ 170,58 ppm foi atribuído ao carbono carbonílico da função orgânica éster (C8'). Os sinais em δ 144,40 ppm e 106,20 ppm foram designados como sendo os carbonos C2'/C6' e C3'/C5' do anel di-hidropiridínico, respectivamente. O sinal em 41,64 ppm foi designado ao carbono C4' do anel di-hidropiridínico. O sinal em 53,37 foi atribuído aos carbonos da metila da função éster (C9'). O sinal em 21,94 ppm foi atribuído aos carbonos das metilas (C7'). Por fim, os sinais em 146,39 ppm, 129,75 ppm, 136,66 ppm e 141,65 ppm foram atribuídos, respectivamente, aos carbonos aromáticos C10', C11', C12' e C13'.

Com relação ao núcleo porfirínico, observou-se o sinal em 133,17 ppm atribuído ao carbono *meso* (C5). Os sinais em 128,65 ppm e 128,06 ppm foram atribuídos aos dois carbonos β -pirrólicos (C2/C3). O sinal em 149,13 ppm foi atribuído ao carbono C6''. O sinal em 131,01 ppm foi atribuído aos carbonos C1'' e C5''. O sinal em 128,12 ppm foi atribuído aos carbonos C4'' e C2''. Por fim, o sinal em 130,58 ppm foi atribuído ao carbono C3''.

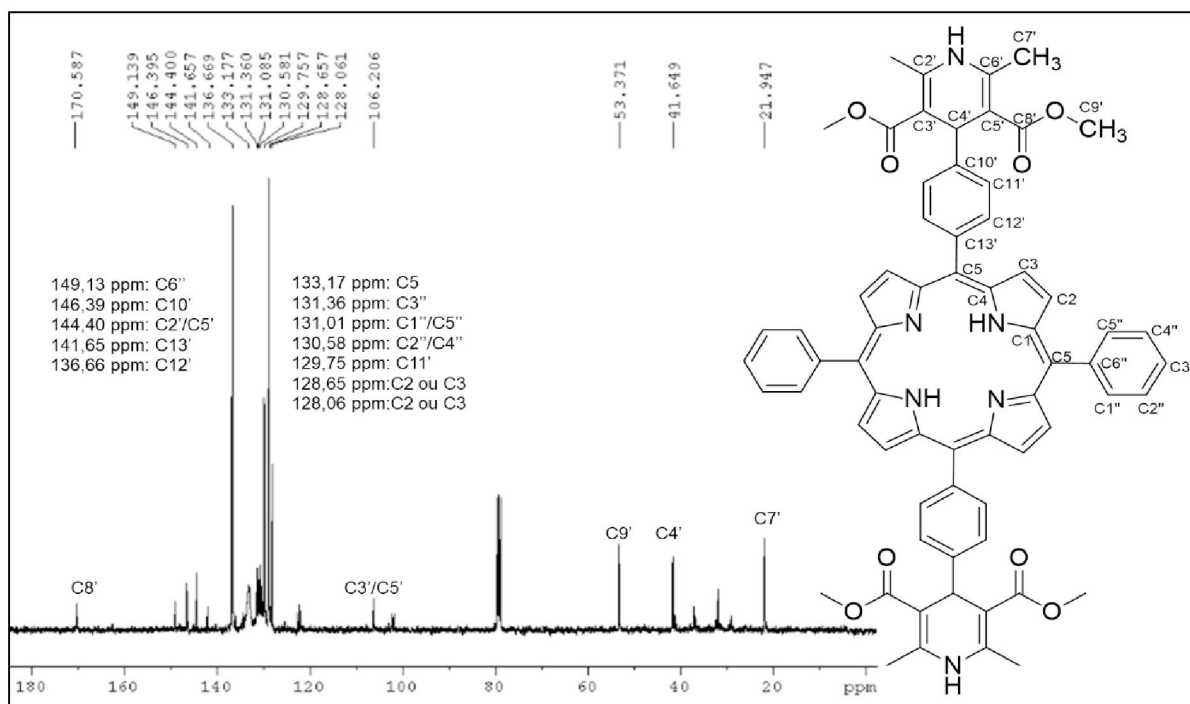


Figura 37: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina-1,4-di-hidropiridina *trans*-A₂B₂ (**2**). (CDCl₃, 100,26 MHz, padrão interno: TMS)

A fórmula molecular do composto **2** foi confirmada por meio da análise no espectrômetro de massas Bruker MicroTOF-Q II XL, sendo a fonte de ionização eletrospray. A massa molecular calculada como aduto de lítio $[\text{M}+2\text{Li}^+]$ foi 1075,0671 Da (C₆₆H₅₆N₆O₈), e a massa encontrada foi 1076,6254 Da (FIGURA 38), com erro de $1,45 \cdot 10^{-9}$ ppm.

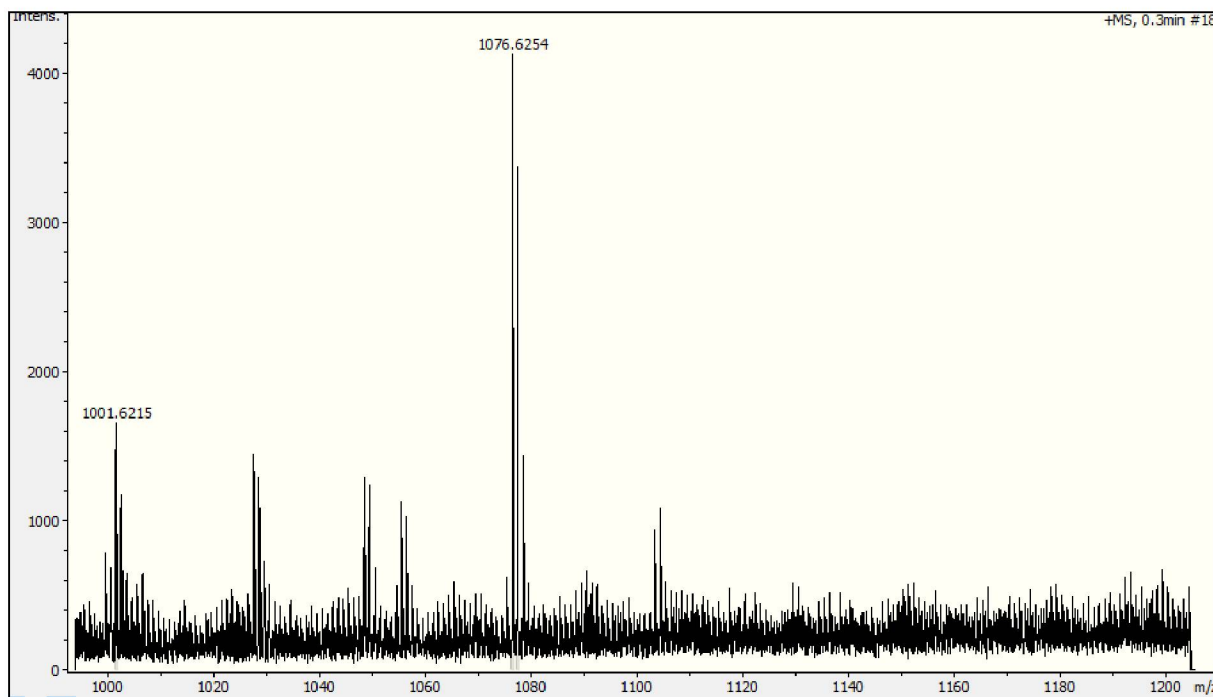


Figura 38: Espectro de massas da porfirina-1,4-di-hidropiridina *trans*-A₂B₂ (**2**). (Composto **2** na concentração de 100 ng.mL⁻¹ em acetonitrila e água 80:2, modo positivo)

O espectro de absorção na região do infravermelho do composto **2** foi interpretado com o auxílio da literatura (PAVIA, *et al.*, 2010; DALLAGNOL, *et al.*, 2014; GUANAES, *et al.*, 2015). Foi observada a banda de estiramento da ligação N-H em 3309 cm⁻¹, a banda de estiramento da ligação C-H do carbono C4', em 2923 cm⁻¹, a qual é característica nos espectros de absorção de núcleos di-hidropiridínicos. Em 1677 cm⁻¹, observou-se a banda de estiramento da ligação C=O da função orgânica éster. Por fim, em 1097 cm⁻¹ e 876 cm⁻¹, foram observadas as duas bandas de deformação das ligações N-H e C-H dos anéis pirrólicos (FIGURA 35).

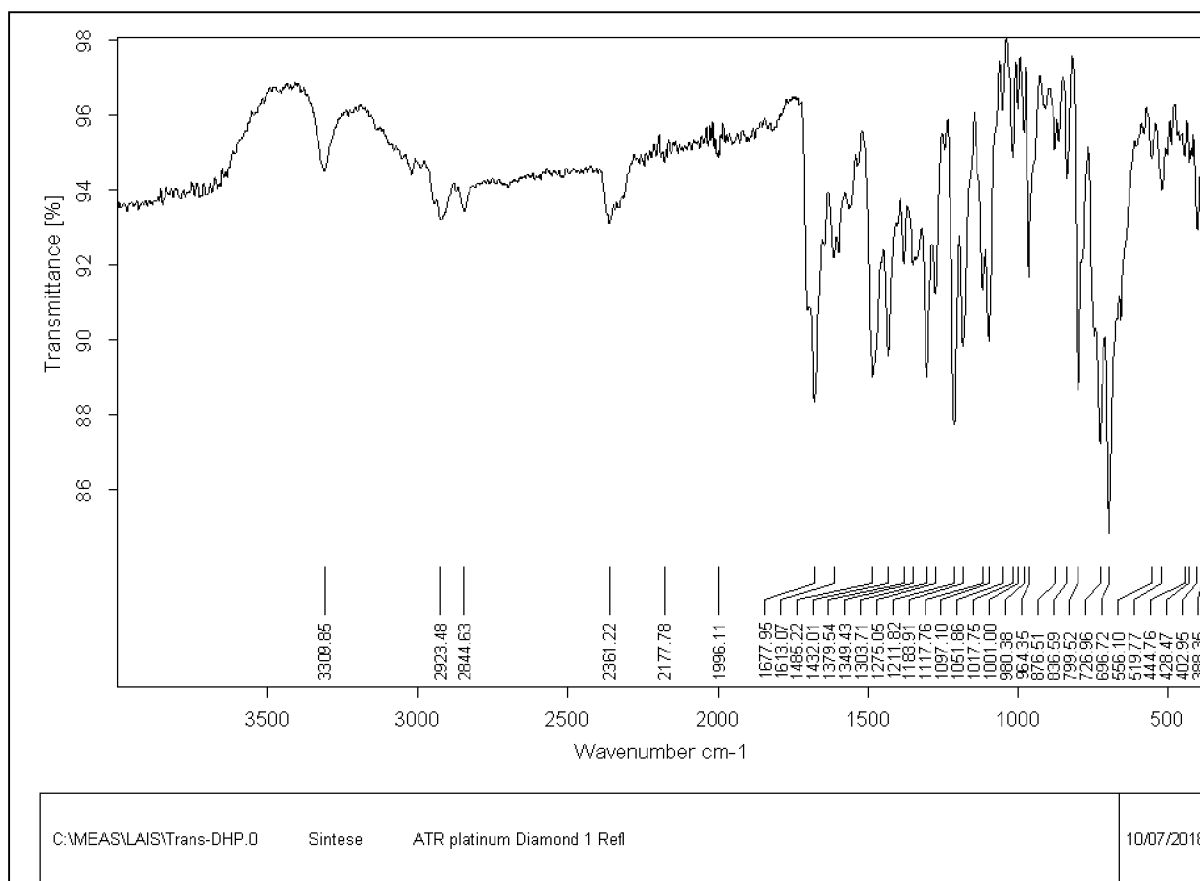
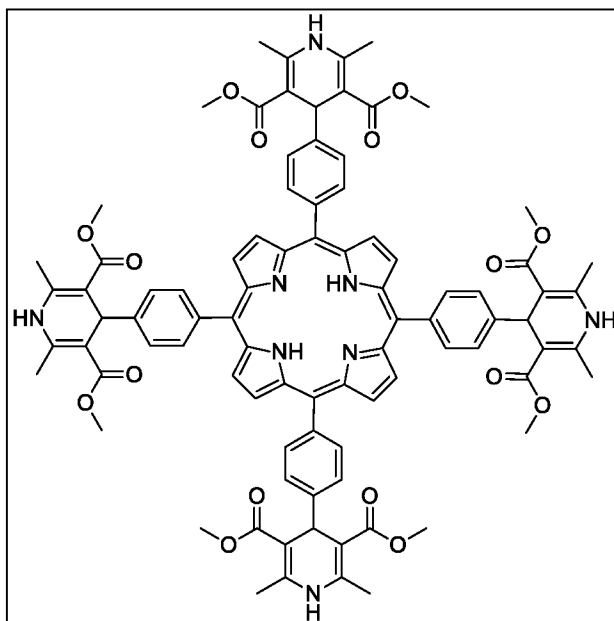


Figura 39: Espectro de absorção na região do infravermelho da porfirina-1,4-dihidropiridina *trans*-A₂B₂ (**2**).

5.4.2.3 Porfirina-1,4-di-hidropiridina A₄ (**3**)



A obtenção do composto **3** foi confirmada principalmente por seus espectros de RMN de ^1H e os mapas de correlação C-H, HSQC e HMBC. Para melhor compreensão das atribuições dos sinais, primeiramente são apresentados os sinais referentes aos anéis di-hidropiridínicos e, por fim, os sinais referentes ao núcleo porfirínico.

No espectro de RMN de ^1H de **3** (FIGURA 40) foram atribuídos os seguintes sinais para o núcleo di-hidropiridínico: o duplete (d) em δ 8,06 ppm ($J = 7,8$ Hz) foi atribuído a oito hidrogênios aromáticos. O duplete (d) em δ 7,57 ppm ($J = 7,8$ Hz) foi atribuído aos outros oito hidrogênios aromáticos. O simpleto em δ 9,13 ppm foi atribuído ao hidrogênio ligado aos quatro nitrogênios (N'-H) dos anéis di-hidropiridínicos. Em δ 5,29 ppm observou-se um sinal característico para os compostos com núcleo di-hidropiridínico, sendo este simpleto relativo aos quatro hidrogênios dos carbonos C4' dos anéis di-hidropiridínicos. Os dois simpletos δ 3,75 ppm e δ 2,44 ppm foram atribuídos a quarenta e oito hidrogênios, sendo vinte e quatro hidrogênios dos grupos metilas da função éster (posições 3' e 5') e vinte e quatro hidrogênios dos grupos metilas das posições 2' e 6' do anel di-hidropiridínico,

respectivamente. Com relação ao núcleo porfírico um *simpleto alongado* em 8,73 ppm foi atribuído aos oito hidrogênios β -pirrólicos (H2/H3).

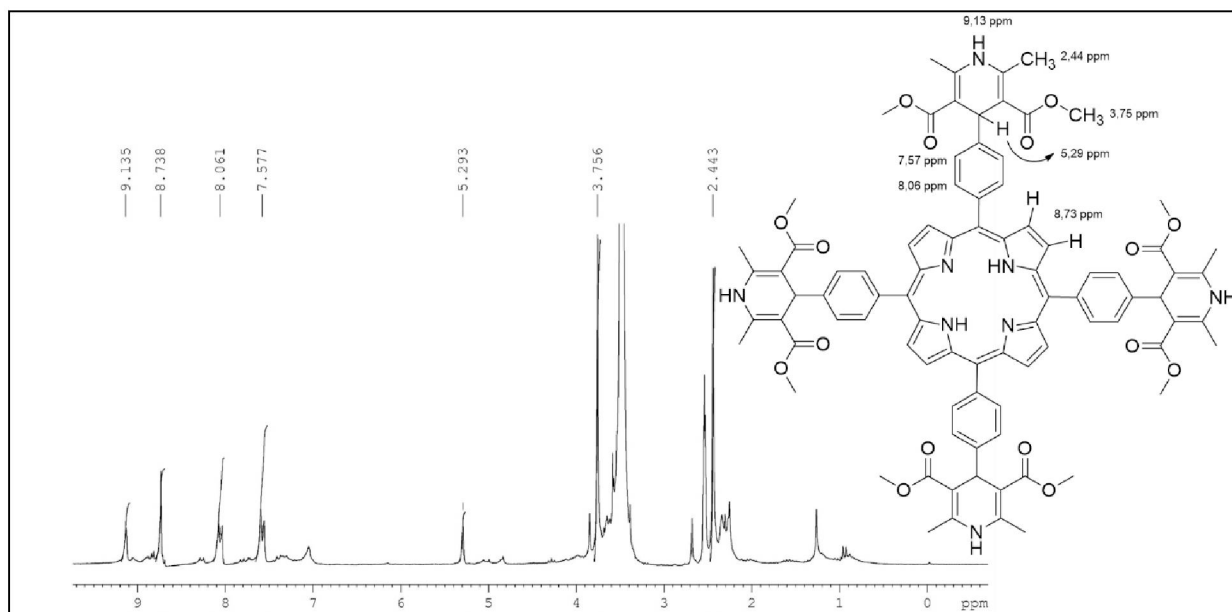


Figura 40: Espectro de RMN de ¹H da porfirina-1,4-di-hidropiridina A₄ (**3**). (DMSO-d₆, 400,2 MHz, padrão interno: TMS)

Os carbonos hidrogenados do composto **3** foram atribuídos com auxílio do mapa de correlação direta C-H (HSQC) (FIGURA 41). O sinal em 38,10 ppm foi designado ao carbono C4' do anel di-hidropiridínico. O sinal em 50,80 foi atribuído aos carbonos da metila da função éster (C9'). O sinal em 18,67 ppm foi atribuído aos carbonos das metilas (C7'). Os sinais em 125,50 ppm e 134,70 ppm foram atribuídos aos carbonos aromáticos C11'e C12'.

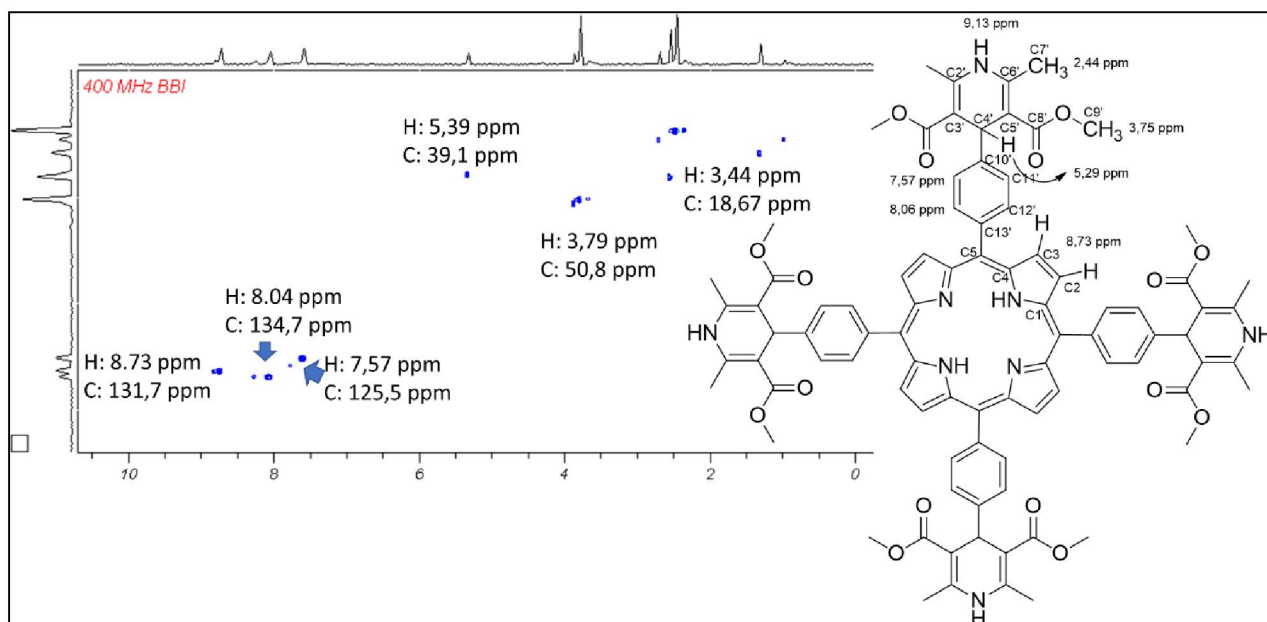


Figura 41: Mapa de correlação direta C-H (HSQC) da porfirina-1,4-di-hidropiridina A4 (**3**). (DMSO- d_6 , 400,2 MHz, padrão interno: TMS)

Os carbonos não hydrogenados foram assinalados com auxílio do mapa de correlação a longa distância C-H (HMBC) (FIGURA 42). O sinal em δ 168,30 ppm foi atribuído ao carbono carbonílico da função orgânica éster (C8'). Os sinais em δ 145,70 ppm e 103,22 ppm foram designados como sendo os carbonos C2'/C6' e C3'/C5' do anel di-hidropiridínico, respectivamente. Os sinais em 147,39 ppm, e 140,55 ppm foram atribuídos, respectivamente, aos carbonos aromáticos C10' e C13'. Com relação ao núcleo porfirínico, observou-se o sinal em 134,37 ppm atribuído ao carbono *meso* (C5). O sinal em 120,75 ppm foi atribuído aos carbonos α -pirrólicos (C1/C4).

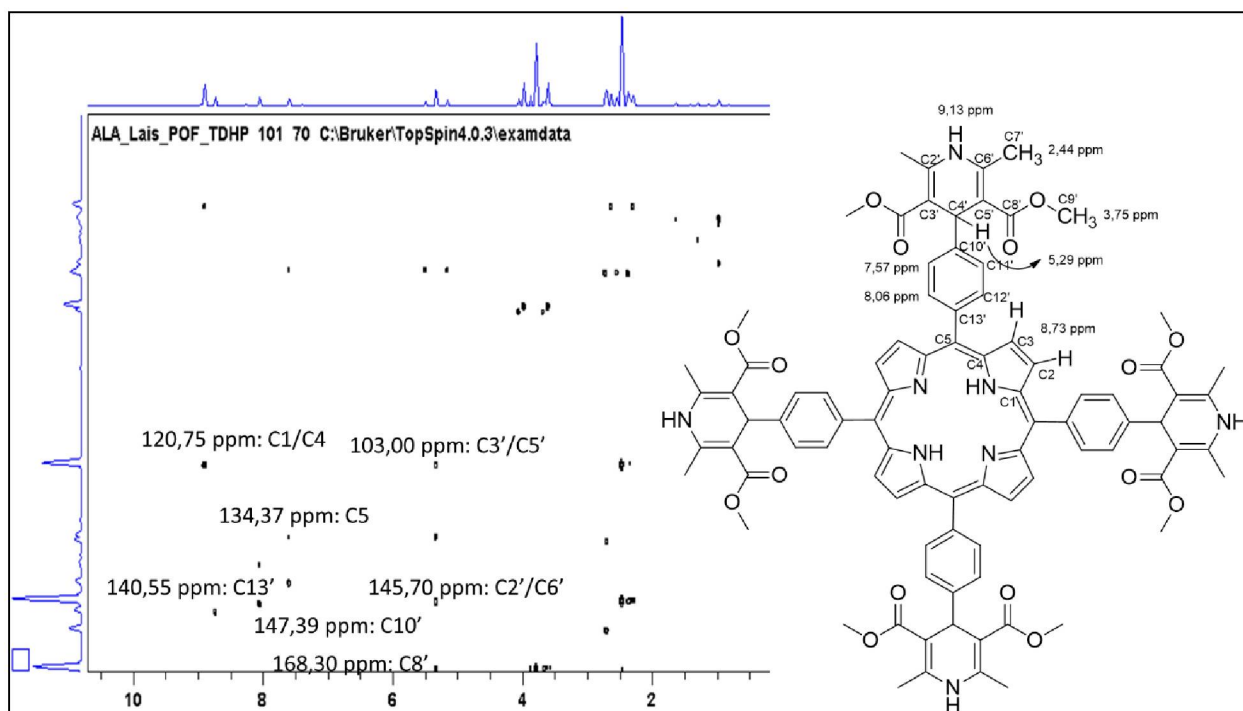


Figura 42: Mapa de correlação a longa distância (HMBC) da porfirina-1,4-dihidropiridina A₄ (**3**). (DMSO-d₆, 400,2 MHz, padrão interno: TMS)

A fórmula molecular do composto **3** foi confirmada por meio da análise no espectrômetro de massas Bruker MicroTOF-Q II XL, sendo a fonte de ionização eletrospray. A massa molecular calculada como aduto de próton [M+H⁺] foi 1507,5921 Da (C₈₈H₈₂N₈O₁₆), e a massa encontrada foi 1507,5859 Da (FIGURA 43), Com erro de $4,1 \cdot 10^{-12}$.

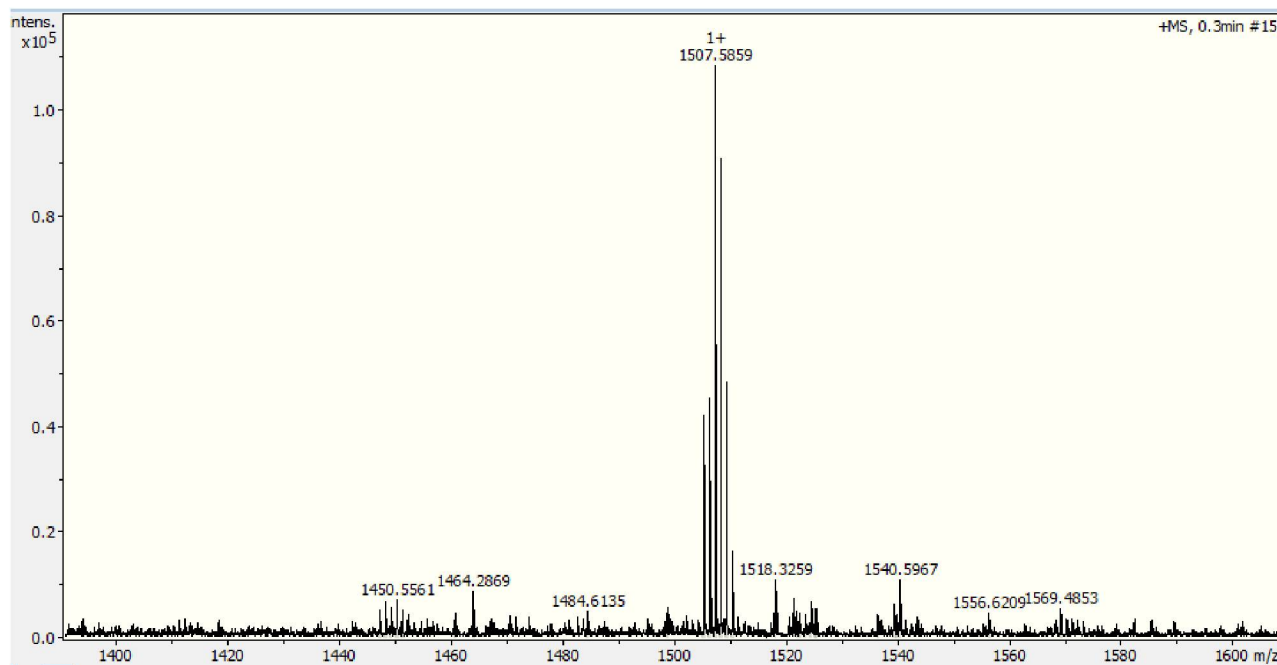
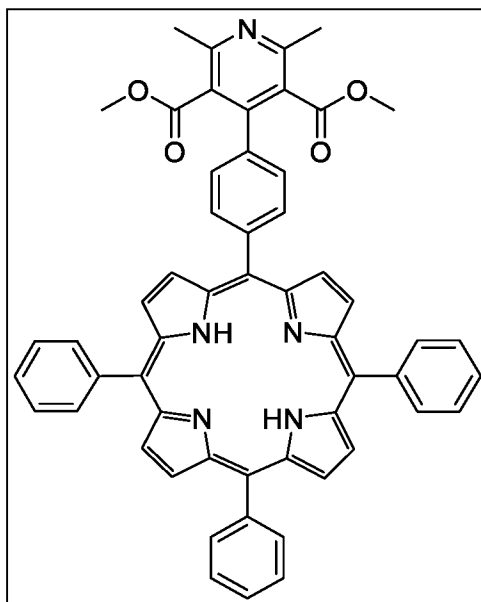


Figura 43: Espectro de Massas da porfirina-1,4-di-hidropiridina A₄ (**3**).
(Composto 3 na concentração de 100 ng.mL⁻¹ em acetonitrila e água 80:2, modo positivo)

5.4.3 Caracterização dos híbridos porfirina-piridina (**4-6**)

5.4.3.1 Porfirina-piridina A₃B (**4**)



A obtenção do composto **4** foi confirmada principalmente por seus espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C . Para melhor compreensão das atribuições dos sinais dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , serão apresentados, primeiramente, os sinais referentes ao anel piridínico presente na posição 5 *meso*, e por fins os sinais do núcleo porfirínico e o anéis aromáticos das demais posições *meso* 10, 15 e 20.

No espectro de RMN de ^1H de **4** (FIGURA 44) foram atribuídos os seguintes sinais para o núcleo piridínico: o duplete (d) em δ 8,66 ppm ($J = 8,0$ Hz) foi atribuído a dois hidrogênios aromáticos. O duplete (d) em δ 7,62 ppm ($J = 8,0$ Hz) foi atribuído aos outros dois hidrogênios aromáticos. Os dois simpletos δ 3,75 ppm e δ 2,65 ppm foram atribuídos a doze hidrogênios, sendo seis hidrogênios dos grupos metilas da função éster (posições 3' e 5') e seis hidrogênios dos grupos metilas das posições 2' e 6' do anel piridínico, respectivamente.

Com relação ao núcleo porfirínico e os demais hidrogênios aromáticos foram atribuídos aos seguintes sinais: um multiplete na faixa de 8,75–8,80 ppm foi atribuído a seis hidrogênios aromáticos. Um multiplete na faixa de 8,10–8,18 ppm foi atribuído a oito hidrogênios β -pirrólicos (H2/H3). O multiplete na faixa de 7,62–7,71 ppm foi

atribuído a 9 hidrogênios aromáticos. Por fim, o sinal em -2,84 ppm foi atribuído aos hidrogênios ligados aos nitrogênios do núcleo porfirínico.

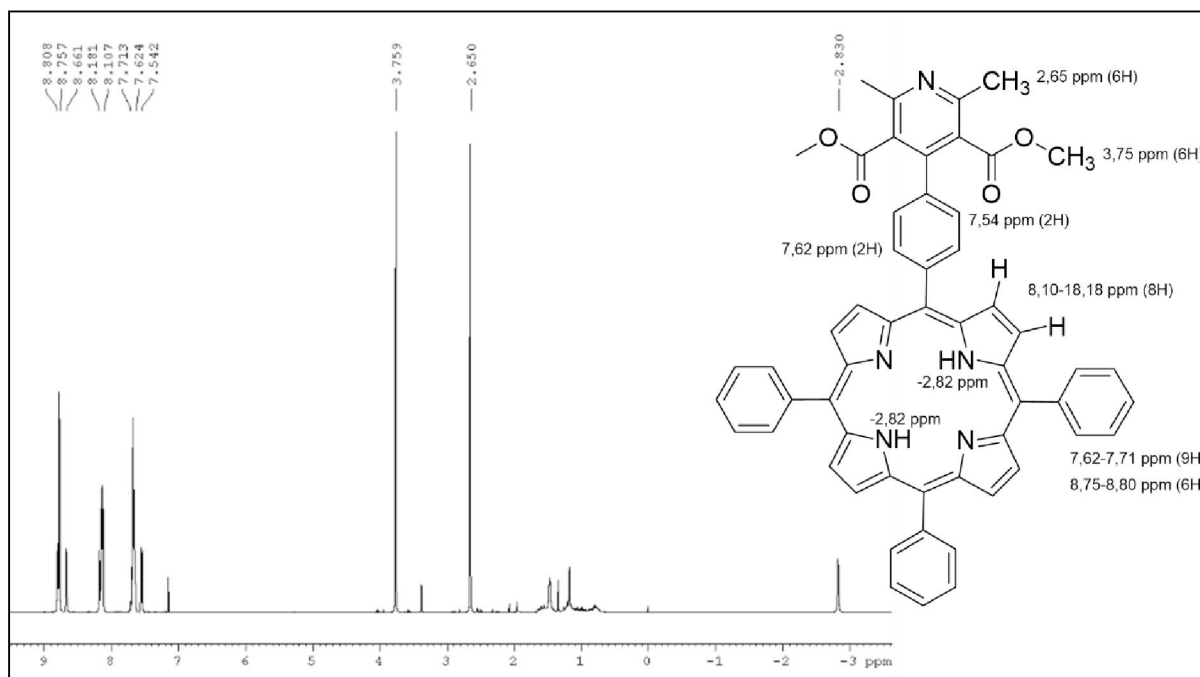


Figura 44: Espectro de RMN de ^1H da porfirina-piridina A₃B (**4**). (CDCl₃, 400,2 MHz, padrão interno: TMS)

No espectro de RMN de ^{13}C de **4** (FIGURA 45), os carbonos atribuídos ao núcleo piridínico foram: o sinal δ 169,91 ppm foi atribuído ao carbono carbonílico da função orgânica éster (C8'). O sinal em 157,44 ppm foi designado como sendo o carbono C4' do anel piridínico. Os sinais em δ 143,60 ppm e 141,44 ppm foram designados como sendo os carbonos C2'/C6' e C3'/C5' do anel piridínico, respectivamente. O sinal em 53,85 foi atribuído aos carbonos da metila da função éster (C9'). O sinal em 24,61 ppm foi atribuído aos carbonos das metilas (C7'). Por fim, os sinais em 137,63 ppm, 127,61 ppm, 128,13 ppm e 139,99 ppm foram atribuídos, respectivamente, aos carbonos aromáticos C10', C11', C12' e C13'.

Com relação ao núcleo porfirínico, observou-se o sinal em 129,57 ppm, que foi atribuído ao carbono *meso* (C5). O sinal em 129,36 foi atribuído aos dois carbonos β -pirrólicos (C1/C4). Os sinais em 135,99 ppm e 135,63 ppm foram atribuídos aos dois carbonos β -pirrólicos (C2/C3). O sinal em 128,89 ppm foi atribuído ao carbono C6''. O sinal em 129,80 ppm foi atribuído aos carbonos C1'' e C5''. O sinal em 129,52 ppm foi

atribuído aos carbonos C4'' e C2''. Por fim, o sinal em 129,20 ppm foi atribuído ao carbono C3''.

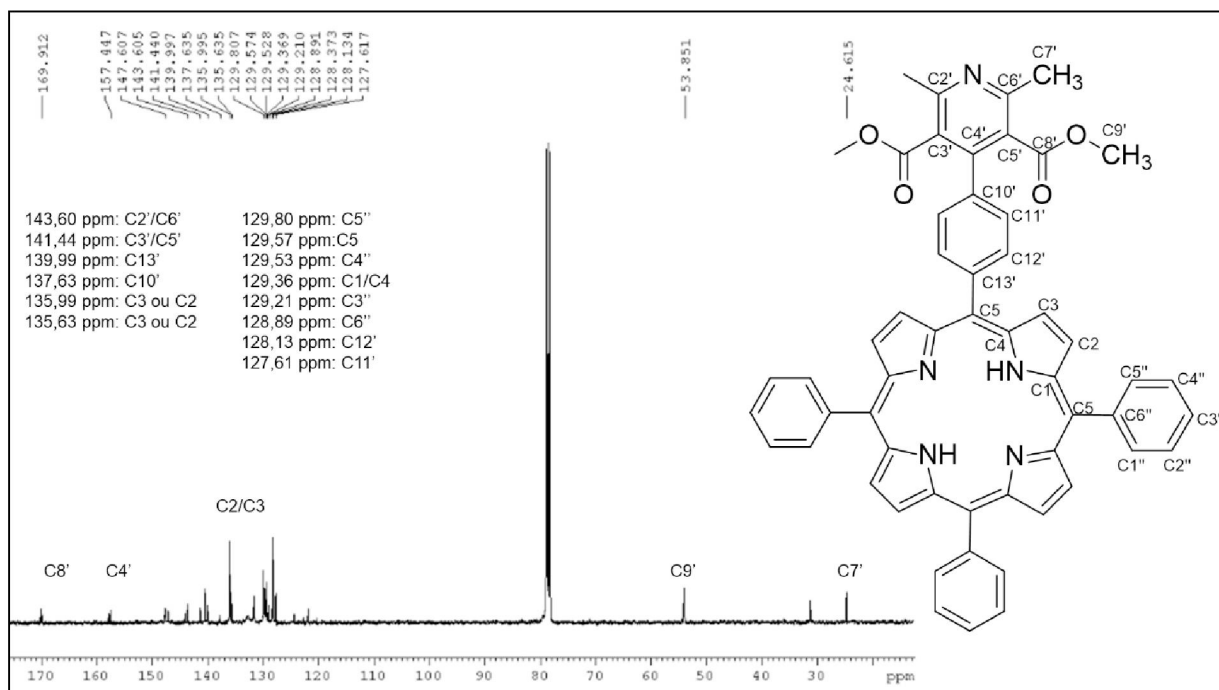


Figura 45: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina-piridina A₃B (**4**). (CDCl₃, 100,62 MHz, padrão interno: TMS)

A fórmula molecular do composto **4** foi confirmada por meio da análise no espectrômetro de massas Bruker MicroTOF-Q II XL, sendo a fonte de ionização eletrospray. A massa molecular calculada com aduto de próton $[\text{M}+\text{H}^+]$ foi 836,3231 Da (FORMULA MOLECULAR), e a massa encontrada foi 836,3188 Da (FIGURA 46).

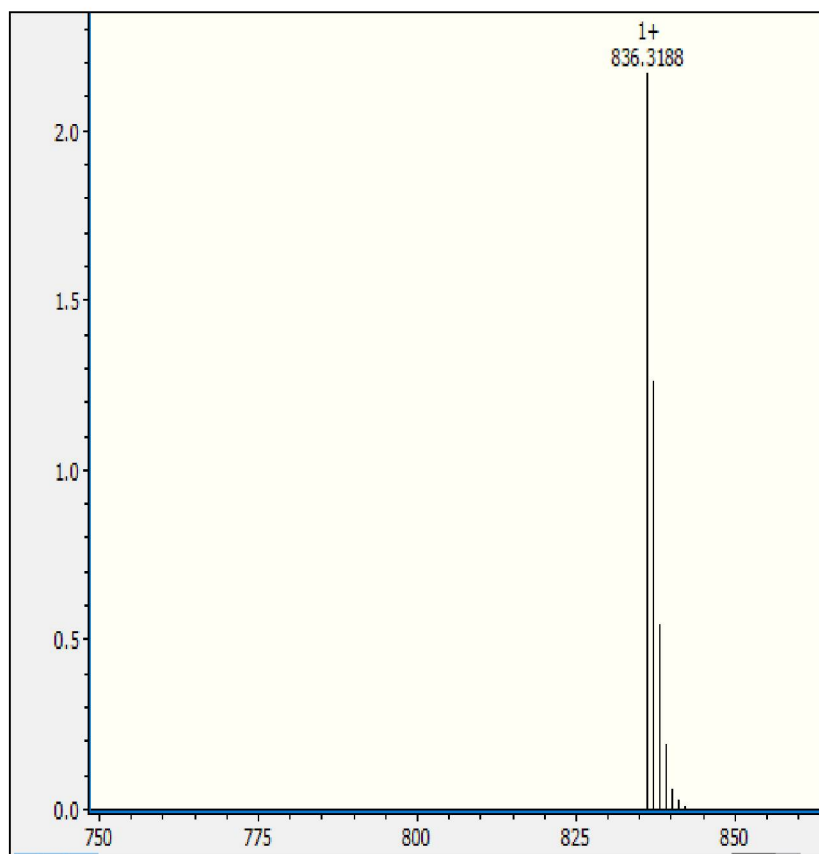


Figura 46: Espectro de massas da porfirina-piridina A₃B (**4**). (Composto 4 na concentração de 100 ng.mL⁻¹ em acetonitrila e água 80:2, modo positivo)

O espectro de absorção na região do infravermelho do composto (**4**) foi interpretado com o auxílio da literatura (PAVIA, *et al.*, 2010; DALLAGNOL, *et al.*, 2014; GUANAES, *et al.*, 2015). Foi observada a banda de estiramento da ligação C=N em 3320 cm⁻¹. Em 1677 cm⁻¹, a banda de estiramento da ligação C=O da função orgânica éster. Por fim, em 1072 cm⁻¹ e 872 cm⁻¹, as duas bandas de deformação das ligações N-H e C-H dos anéis pirrólicos (FIGURA 47).

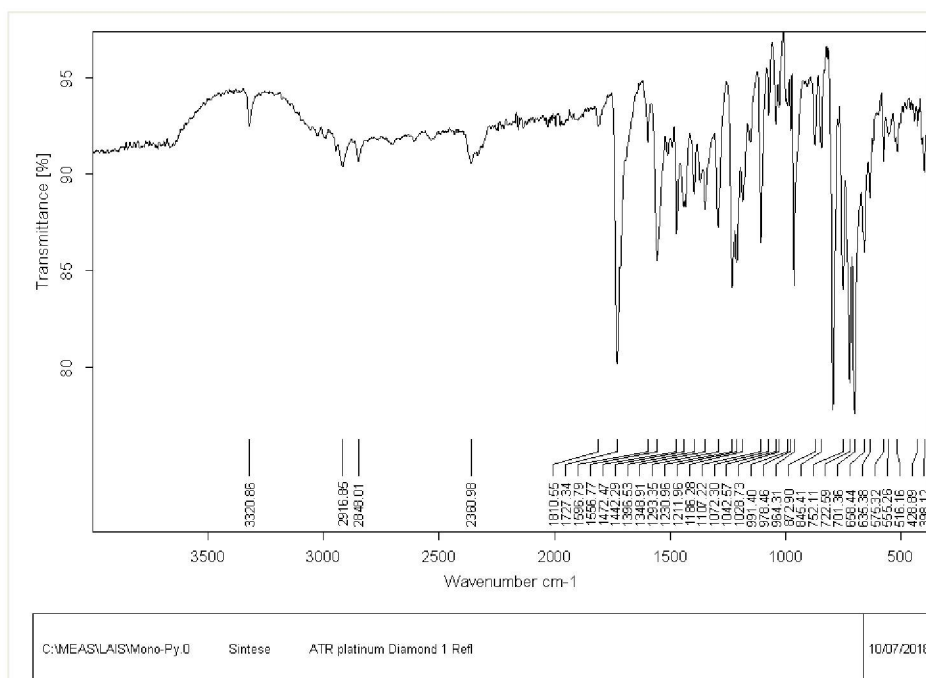
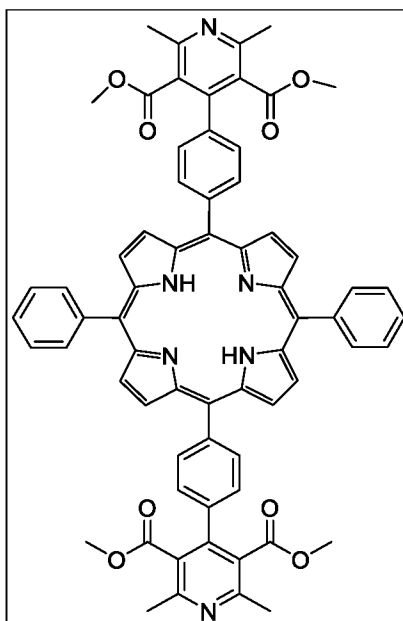


Figura 47: Espectro de absorção na região do Infravermelho da porfirina-piridina A₃B (4).

5.4.3.2 Porfirina-piridina *trans*-A₂B₂ (**5**)



A obtenção do composto **5** foi confirmada principalmente por seus espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C . Para melhor compreensão das atribuições dos sinais dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , serão apresentados, primeiramente, os sinais referentes aos anéis piridínicos, presente nas posições *meso* 5 e 15, seguido do núcleo porfirínico e o anéis aromáticos das demais posições *meso* 10 e 20.

No espectro de RMN de H^1 de **5** (FIGURA 48) foram atribuídos os seguintes sinais para o núcleo piridínico: o duplete (d) em δ 8,65 ppm ($J = 7,8$ Hz) foi atribuído a quatro hidrogênios aromáticos. O duplete (d) em δ 7,54 ppm ($J = 7,8$ Hz) foi atribuído aos outros quatro hidrogênios aromáticos. Os dois simpletos em δ 3,75 ppm e δ 2,65 ppm foram atribuídos a vinte e quatro hidrogênios, sendo doze hidrogênios dos grupos metilas da função éster (posições 3' e 5') e doze hidrogênios dos grupos metilas das posições 2' e 6' do anel piridínico, respectivamente.

Com relação ao núcleo porfirínico e os demais hidrogênios aromáticos foram atribuídos aos seguintes sinais: um multiplete na faixa de 8,74–8,81 ppm foi atribuído a quatro hidrogênios aromáticos. Um multiplete na faixa de 8,09–8,18 ppm foi atribuído a oito hidrogênios β -pirrólicos (H2/H3). O multiplete na faixa de 7,62–7,72 ppm foi atribuído a seis hidrogênios aromáticos. Por fim, o sinal em -2,83 ppm foi atribuído aos hidrogênios ligados aos nitrogênios do núcleo porfirínico.

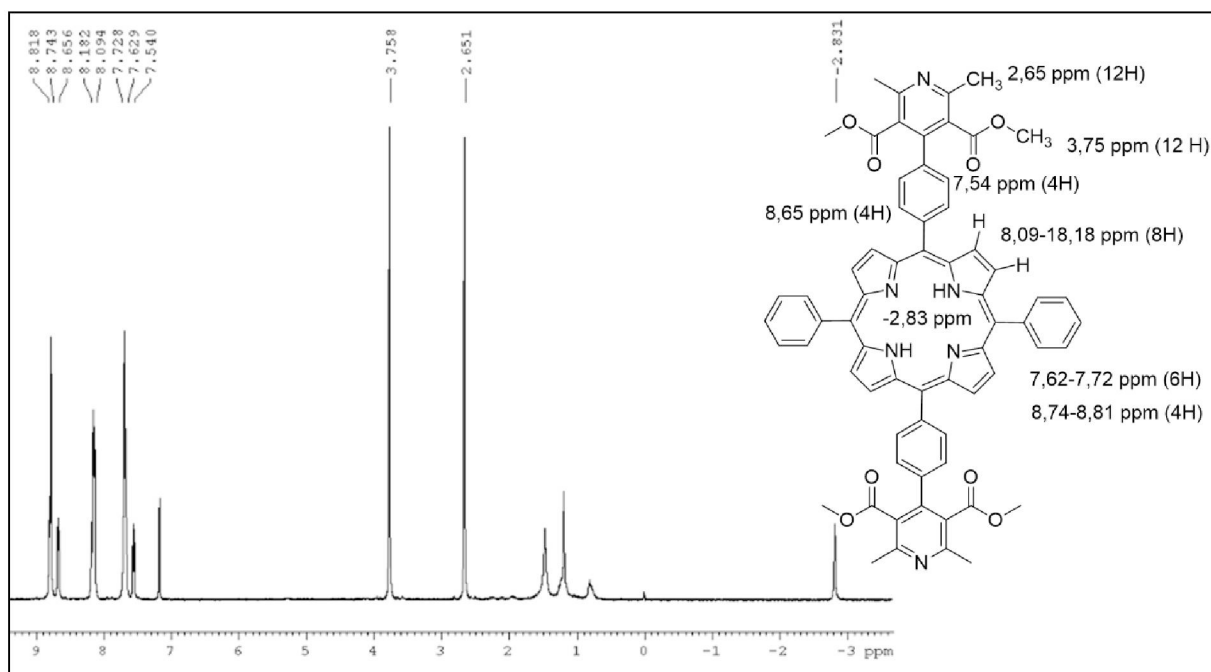


Figura 48: Espectro de RMN de ^1H da porfirina-piridina *trans*-A₂B₂ (**5**). (CDCl₃, 400,2 MHz, padrão interno: TMS)

No espectro de RMN de ^{13}C de **5** (FIGURA 49), os carbonos atribuídos ao núcleo piridínico foram: o sinal δ 170,58 ppm foi atribuído ao carbono carbonílico da função orgânica éster (C8'). O sinal em 158,11 ppm foi designado como sendo o carbono C4' do anel piridínico. Os sinais em δ 148,39 ppm e 144,59 ppm foram designados como sendo os carbonos C2'/C6' e C3'/C5' do anel piridínico, respectivamente. O sinal em 54,36 foi atribuído aos carbonos da metila da função éster (C9'). O sinal em 25,17 ppm foi atribuído aos carbonos das metilas (C7'). Por fim, os sinais 144,14 ppm, 128,23 ppm, 128,75 ppm e 138,27 ppm foram atribuídos, respectivamente, aos carbonos aromáticos C10', C11', C12' e C13'.

Com relação ao núcleo porfirínico, observou-se o sinal em 122,38 ppm, que foi atribuído ao carbono *meso* (C5). Os sinais em 136,60 ppm e 136,20 ppm foram atribuídos aos dois carbonos β -pirrólicos (C2/C3). O sinal em 133,31 ppm foi atribuído aos carbonos C1'' e C5''. O sinal em 132,58 ppm foi atribuído aos carbonos C4'' e C2''. Por fim, o sinal em 129,82 ppm foi atribuído ao carbono C3''.

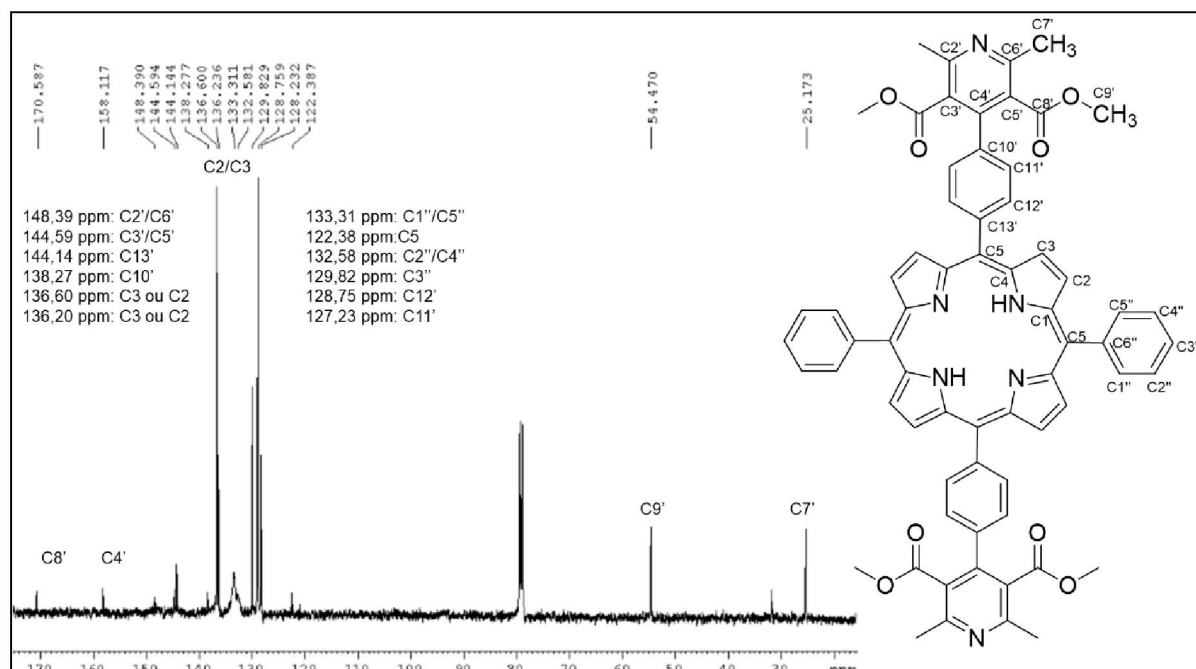


Figura 49: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina-piridina *trans*-A₂B₂ (**5**). (CDCl₃, 100,62 MHz, padrão interno: TMS)

A fórmula molecular do composto **5** foi confirmada por meio da análise no espectrômetro de massas Bruker MicroTOF-Q II XL, sendo a fonte de ionização eletrospray. A massa molecular calculada como aduto de próton $[\text{M}+\text{H}^+]$ foi 1043,7319 Da (FORMULA MOLECULAR), e a massa encontrada foi 1043,7305 Da (FIGURA 50).

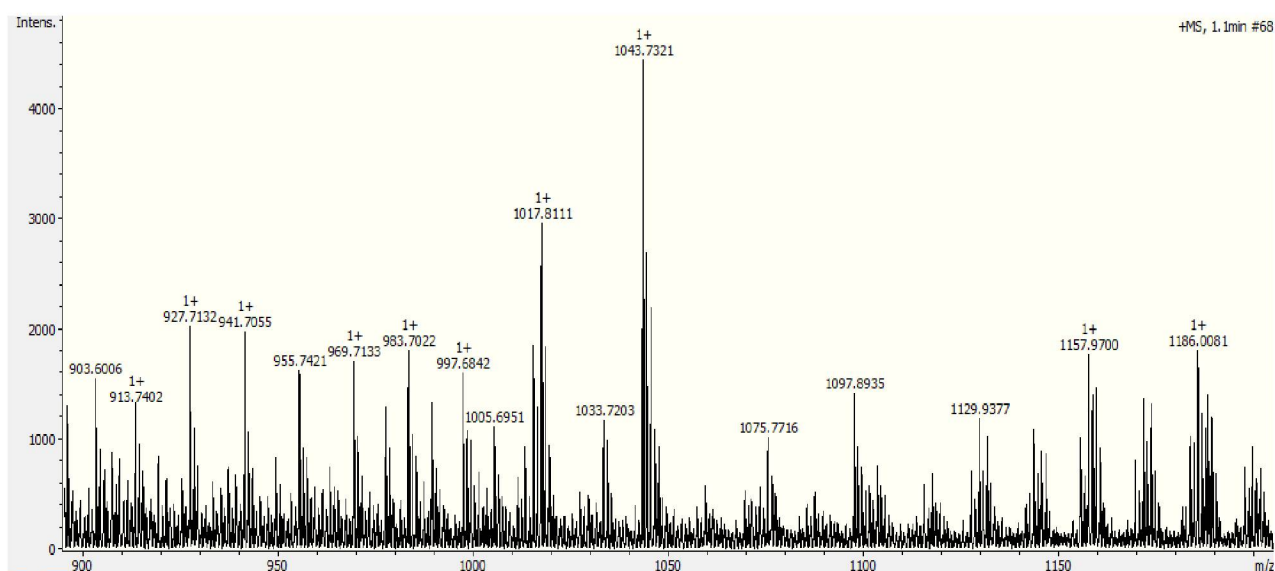


Figura 50: Espectro de massas da porfirina-piridina *trans*-A₂B₂ (**5**). (Composto **5** na concentração de 100 ng.mL⁻¹ em acetonitrila e água 80:2, modo positivo)

O espectro de absorção na região do infravermelho do composto **5** foi interpretado com o auxílio da literatura (PAVIA, *et al.*, 2010; DALLAGNOL, *et al.*, 2014; GUANAES, *et al.*, 2015). Foi observada a banda de estiramento da ligação C=N em 3321 cm^{-1} . Em 1727 cm^{-1} , foi observada a banda de estiramento da ligação C=O da função orgânica éster. Por fim, as bandas em 1072 cm^{-1} e 873 cm^{-1} , foram atribuídas a deformação das ligações N-H e C-H dos anéis pirrólicos (FIGURA 51).

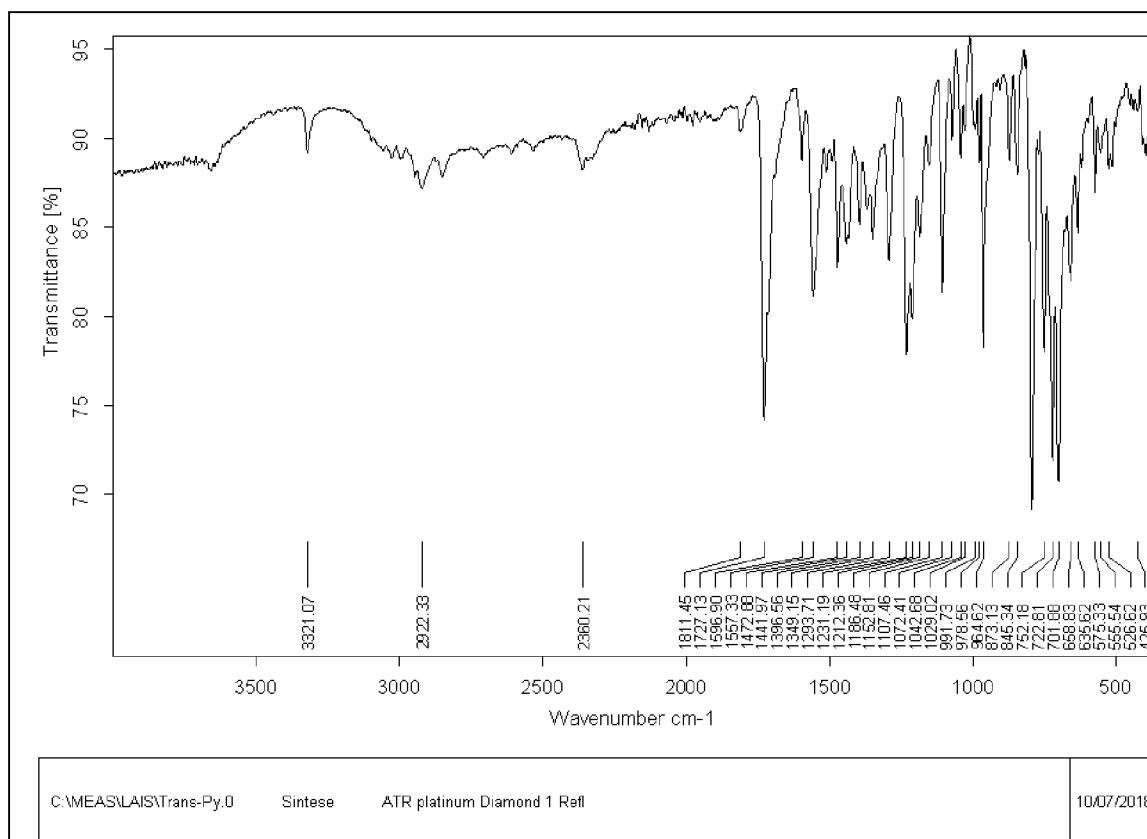
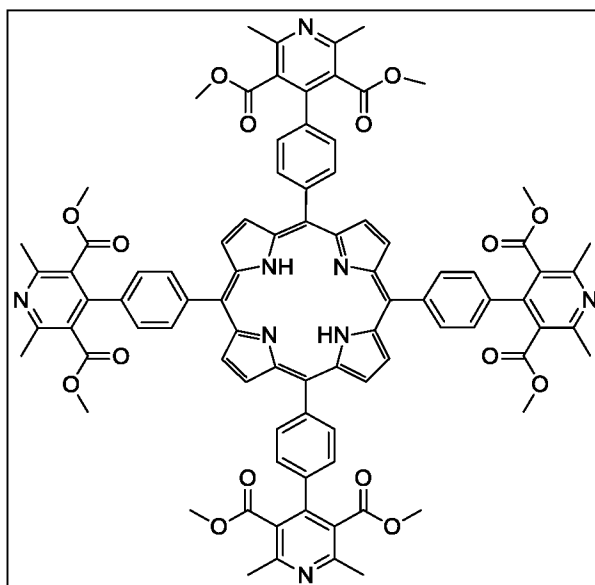


Figura 51: Espectro de absorção na região do infravermelho da porfina *trans*-A₂B₂ (**5**).

5.4.3.3 Porfirina-piridina A₄ (**6**)

A obtenção do composto **6** foi confirmada principalmente por seus espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C . No espectro de RMN de ^1H de **6** (FIGURA 52) foram atribuídos os seguintes sinais para o núcleo piridínico: o duplete (d) em δ 8,17 ppm ($J = 7,4$ Hz) foi atribuído a oito hidrogênios aromáticos. O duplete (d) em δ 7,58 ppm ($J = 7,4$ Hz) foi atribuído aos outros oito hidrogênios aromáticos. Os dois simpletos δ 3,79 ppm e δ 2,66 ppm foram atribuídos a quarenta e oito hidrogênios, sendo vinte e quatro hidrogênios das metilas da função éster (posições 3' e 5') e vinte e quatro hidrogênios das metilas das posições 2' e 6' do anel piridínico, respectivamente.

Com relação ao núcleo porfirínico foram atribuídos os seguintes sinais: um simpleto em 8,73 ppm a oito hidrogênios β -pirrólicos (H2/H3). Por fim, o sinal em -2,81 ppm foi atribuído aos hidrogênios ligados aos nitrogênios do núcleo porfirínico.

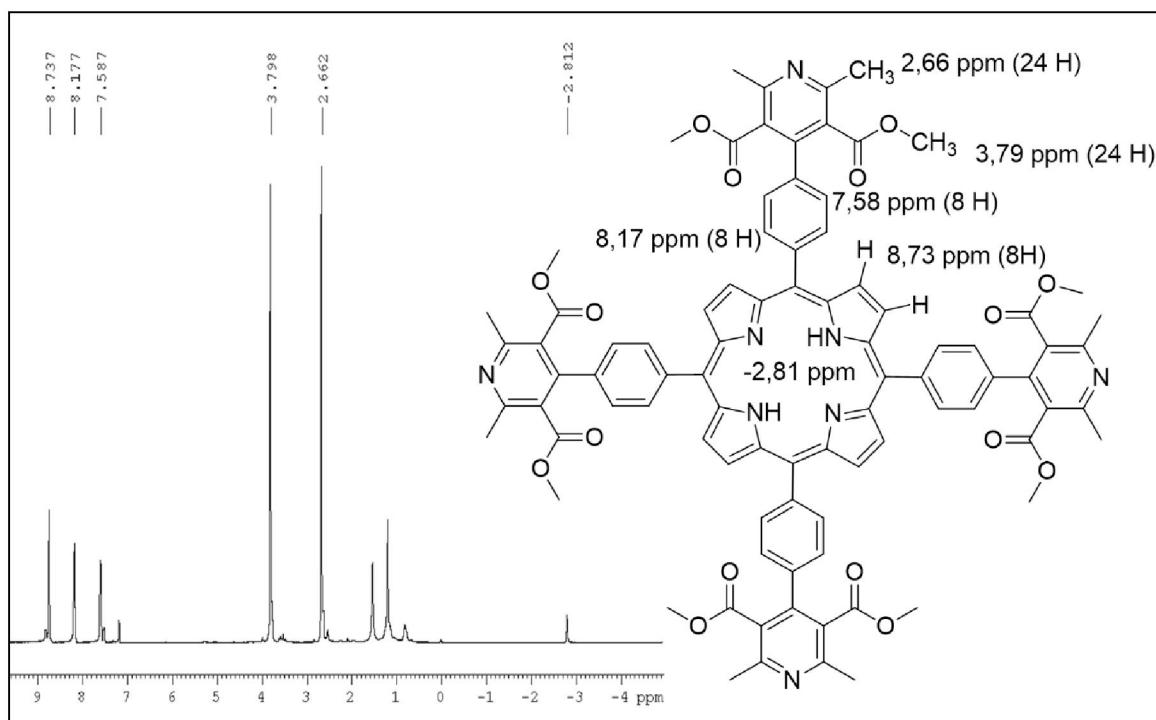


Figura 52: Espectro de RMN de ^1H da porfirina-piridina **A4** (**6**). (CDCl_3 , 400,2 MHz, padrão interno: CHCl_3)

No espectro de RMN de ^{13}C de **6** (FIGURA 53), os carbonos atribuídos aos núcleos piridínicos foram: o sinal δ 170,62 ppm foi atribuído ao carbono carbonílico da função orgânica éster ($\text{C8}'$). O sinal em 158,64 ppm foi designado como sendo o carbono $\text{C4}'$ do anel piridínico. Os sinais em δ 148,11 ppm e 133,84 ppm foram designados como sendo os carbonos $\text{C2}'/\text{C6}'$ e $\text{C3}'/\text{C5}'$ do anel piridínico, respectivamente. O sinal em 54,47 foi atribuído aos carbonos da metila da função éster ($\text{C9}'$). O sinal em 25,18 ppm foi atribuído aos carbonos das metilas ($\text{C7}'$). Por fim, os sinais em 144,64 ppm, 128,46 ppm, 128,99 ppm e 138,66 ppm foram atribuídos, respectivamente, aos carbonos aromáticos $\text{C10}'$, $\text{C11}'$, $\text{C12}'$ e $\text{C13}'$.

Com relação ao núcleo porfirínico, observou-se o sinal em 121,63 ppm foi atribuído ao carbono *meso* (C5). O sinal em 145,00 foi atribuído aos dois carbonos β -pirrólicos ($\text{C1}/\text{C4}$). Os sinais em 136,28 ppm e 136,16 ppm foram atribuídos aos dois carbonos β -pirrólicos ($\text{C2}/\text{C3}$).

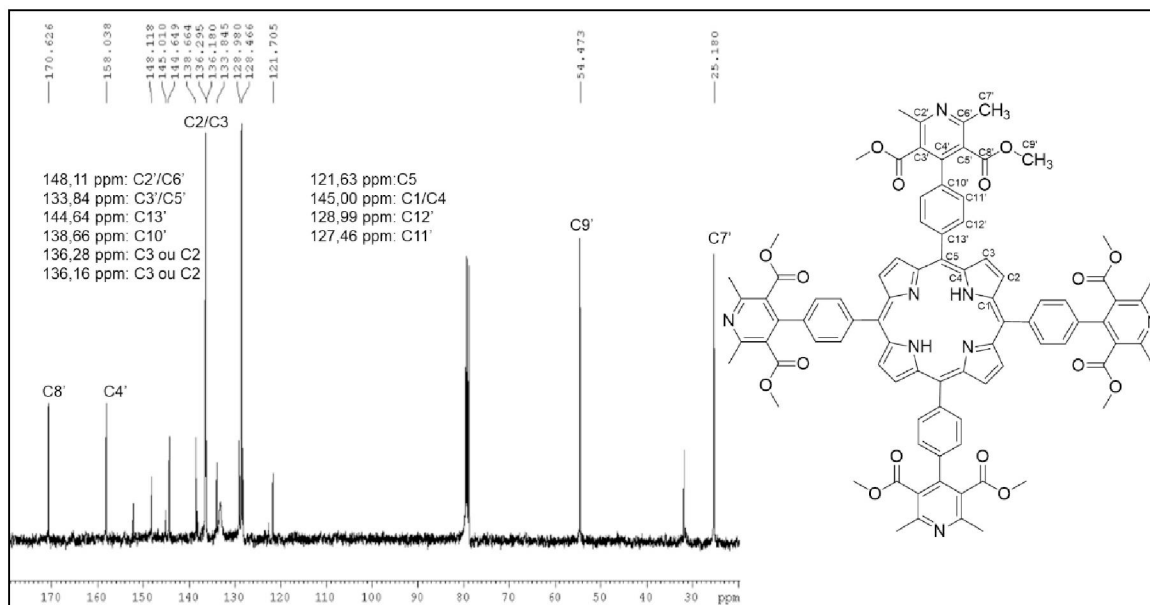


Figura 53: Espectro de RMN de ^{13}C da porfirina-piridina A₄ (**6**). (CDCl₃, 100,62 MHz, padrão interno: TMS)

A fórmula molecular do composto (**6**) foi confirmada por meio da análise no espectrômetro de massas Bruker MicroTOF-Q II XL, sendo a fonte de ionização eletrospray. A massa molecular calculada como aduto de próton $[\text{M}+\text{H}^+]$ foi 1500,5379 Da (FORMULA MOLECULAR), e a massa encontrada foi 1500,5202 Da (FIGURA 54).

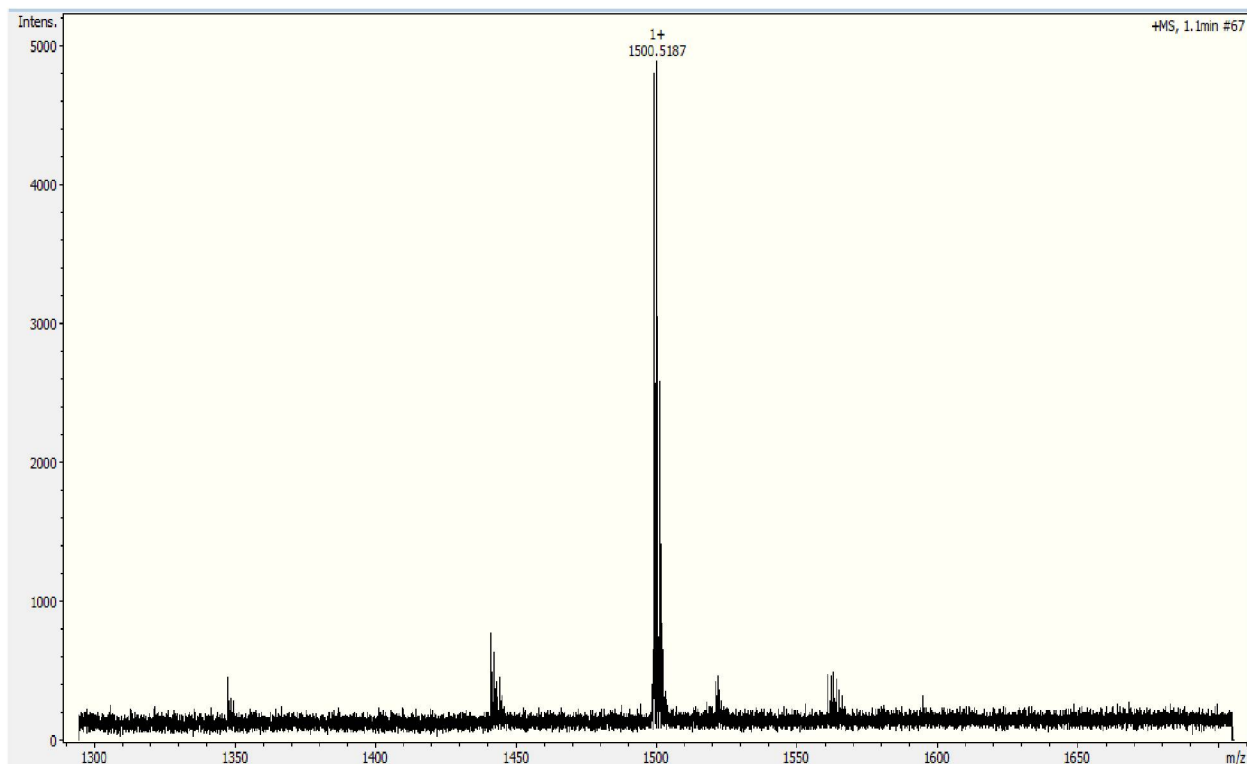


Figura 54: Espectro de Massas da porfirina-piridina A₄ (**6**).
(Composto 5 na concentração de 100 ng.mL⁻¹ em acetonitrila e água 80:2, modo positivo)

O espectro de absorção na região do infravermelho do composto **6** foi interpretado com o auxílio da literatura (PAVIA, *et al.*, 2010; DALLAGNOL, *et al.*, 2014; GUANAES, *et al.*, 2015). Foi observada a banda de estiramento da ligação C=N em 3322 cm⁻¹. Em 1700 cm⁻¹, a banda de estiramento da ligação C=O da função orgânica éster. Por fim, em 1105 cm⁻¹ e 874 cm⁻¹, as duas bandas de deformação das ligações N-H e C-H dos anéis pirrólicos (FIGURA 55).

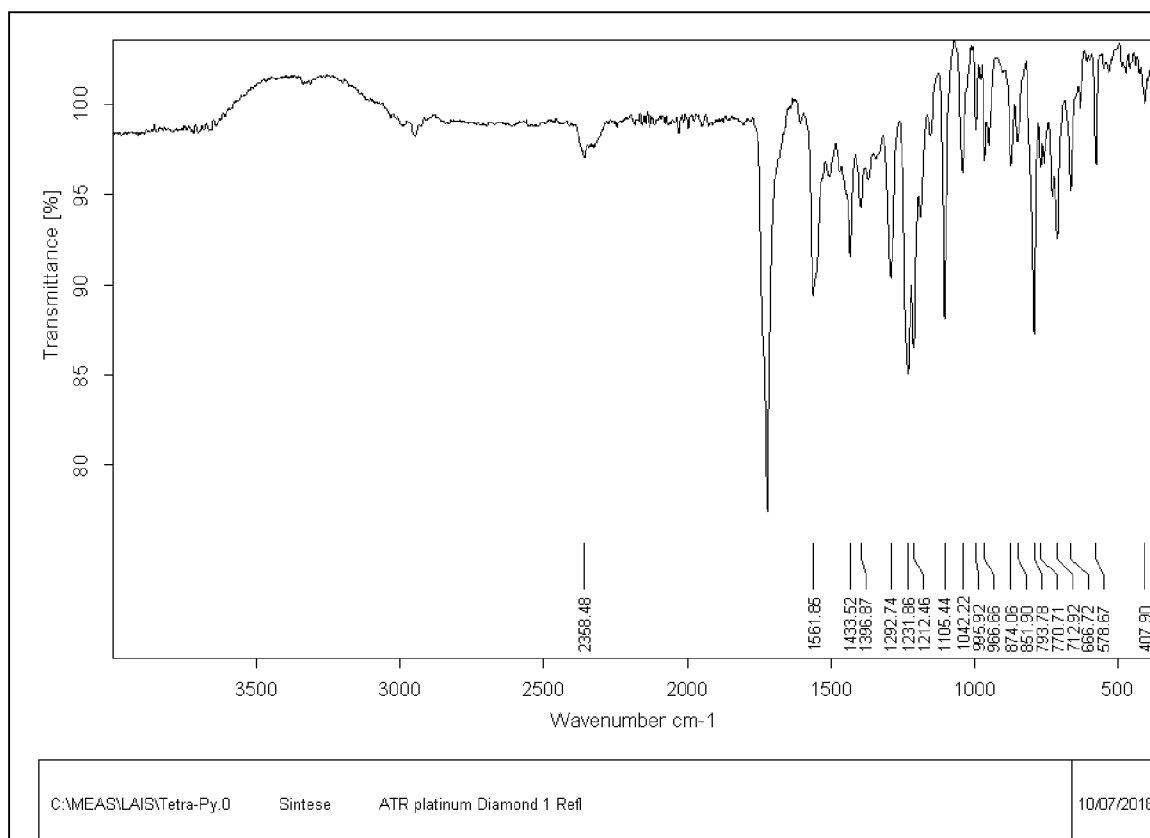


Figura 55: Espectro de absorção na região do infravermelho da porfirina-piridina A₄ (6).

5.5 Avaliação das propriedades fotofísicas dos híbridos porfirínicos 1–6.

Os estudos fotofísicos foram realizados com o intuito de averiguar se diferenças na natureza do grupo de ligação influenciariam de maneira significativa as características fotofísicas dos híbridos porfirínicos. Esta avaliação foi realizada com vista ao emprego das moléculas propostas na terapia fotodinâmica. Sendo assim, os híbridos porfirínicos sintetizados foram comparados entre si e com alguns parâmetros relatados na literatura. Os mesmos puderam ser então classificados como mais ou menos promissores, de acordo com sua aproximação de características consideradas ideais para um fotossensibilizador.

5.5.1 Perfil espectral de absorção na região do ultravioleta-visível

Os perfis espectrais de UV-Vis das porfirinas **1–6** foram avaliados, a fim de se identificar algum efeito relacionado as suas respectivas bandas de absorção, o qual poderia ser atribuído à conjugação do núcleo porfirínico às porções 1,4-di-hidropiridina ou piridina. Os espectros foram adquiridos a partir de 380 nm até 800 nm. Para melhor visualização da banda Soret (entre 400 – 450 nm) e as bandas Q (acima de 500 nm), o espectro foi dividido em duas figuras: GRÁFICO 1, que apresenta a comparação entre as bandas Soret das seis porfirinas estudadas, e GRÁFICO 2 que apresenta a comparação entre as bandas Q.

No GRÁFICO 1 é possível observar que a porfirina-piridina **6** apresentou um efeito hipsocrômico (para menor comprimento de onda) quando comparado com a sua porfirina precursora 1,4-di-hidropiridinas **3**. Este resultado apresenta grande relevância, pois porfirinas que absorvem luz em maiores comprimentos de onda são moléculas-alvo para obtenção de fotossensibilizadores que atuem em tecidos mais profundos.

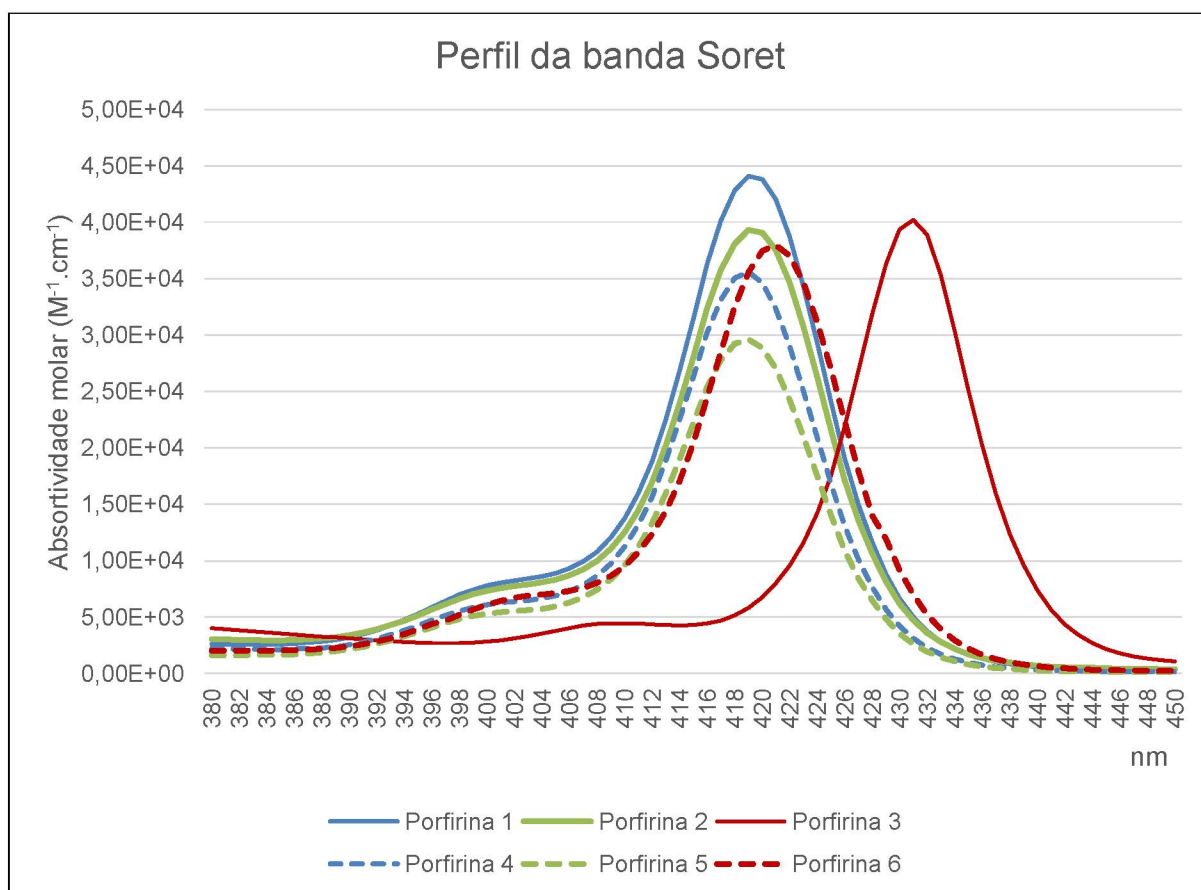


Gráfico 1: Perfil das bandas Soret das porfirinas **1–6**.

No GRÁFICO 2 pode ser observado que enquanto todas as porfirinas avaliadas apresentaram bandas Q em torno de 650 nm, a porfirina **2** apresentou uma banda Q adicional em 756 nm, destacando-se portando no quesito de absorver em comprimento de ondas maiores. Aparentemente, apenas na porfirina **2** ocorre efeitos eletrônicos significativamente importante, o que traduz-se no aparecimento desta nova banda.

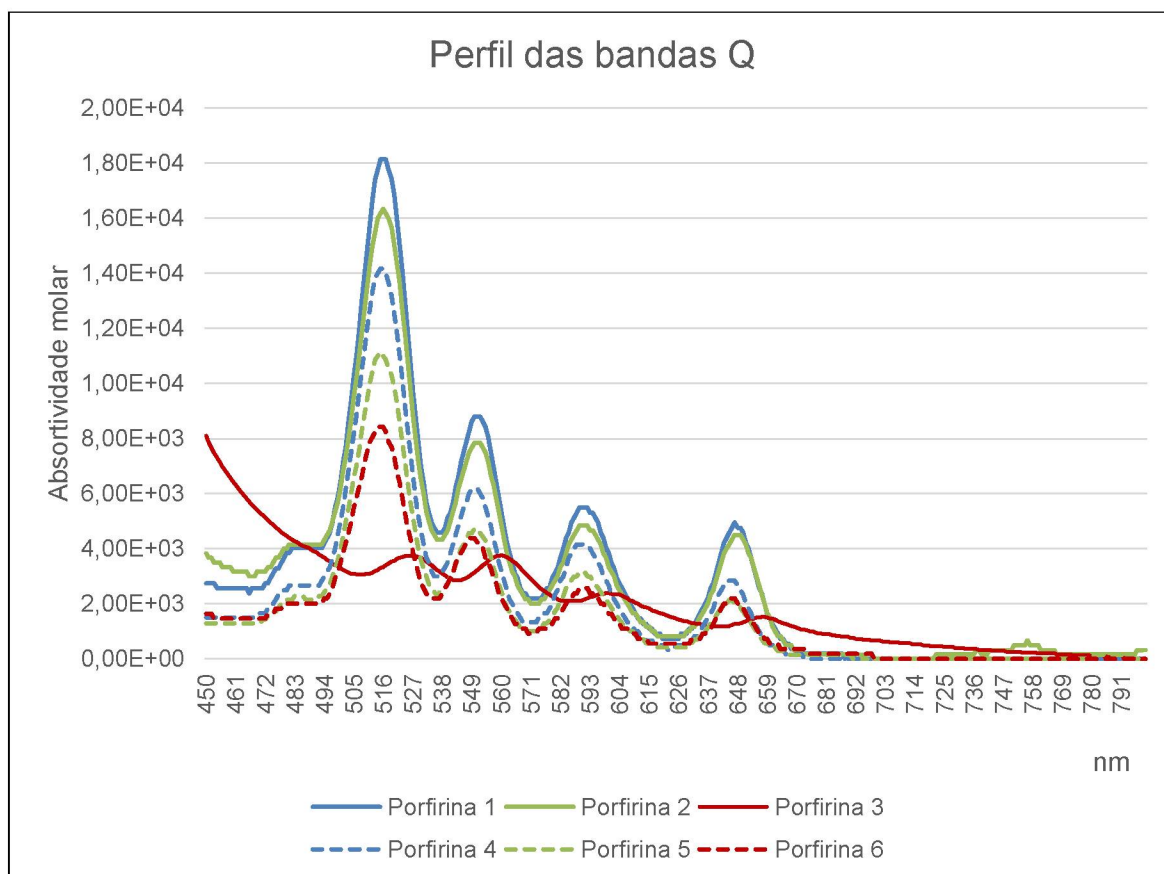


Gráfico 2: Perfil spectral na região do Ultravioleta-visível das bandas Q das porfirinas **1–6**.

Outro resultado observado, com relação ao perfil espectral das bandas Q, foi que porfirina **3** apresentou a banda $Q_{IV} < Q_{III}$. Devido esse perfil de bandas Q, a porfirina **3** pode ser classificada como uma *rhodoporphyrin*. Esta classificação é comum em porfirinas que apresentam um substituinte na posição β -pirrólica (MILGROM, 1997). As porfirinas **4**, **5** e **6** apresentaram um espectro UV-vis muito semelhante, quando comparadas às suas porfirinas precursoras **1**, **2** e **3**, respectivamente. Essas porfirinas podem ser chamadas de *ethioporphyrin* porque as intensidades relativas das bandas Q estão em ordem decrescente: $IV > III > II > I$, sendo este um perfil comum para as porfirinas *meso* substituídas (MILGROM, 1997).

5.5.2 Avaliação da fotoestabilidade dos híbridos porfirínicos 1–6.

O estudo de fotoestabilidade foi realizado em meio aquoso a fim de verificar o comportamento dos compostos em um meio que se aproxima ao meio biológico. O parâmetro utilizado para avaliar a fotoestabilidade dos compostos foi o decaimento da absorbância no ponto máximo da banda Soret. Neste teste deve-se inicialmente avaliar a estabilidade dos compostos na ausência de luz para se ter certeza de que os decaimentos observados decorrem da irradiação. Além da fotodegradação, outros fatores podem levar ao decaimento da banda Soret, dentre eles a degradação química e a agregação dos compostos. O GRÁFICO 3 mostra os resultados das leituras de absorbância no ponto máximo da banda Soret em porcentagem nos diferentes períodos de tempo avaliados.

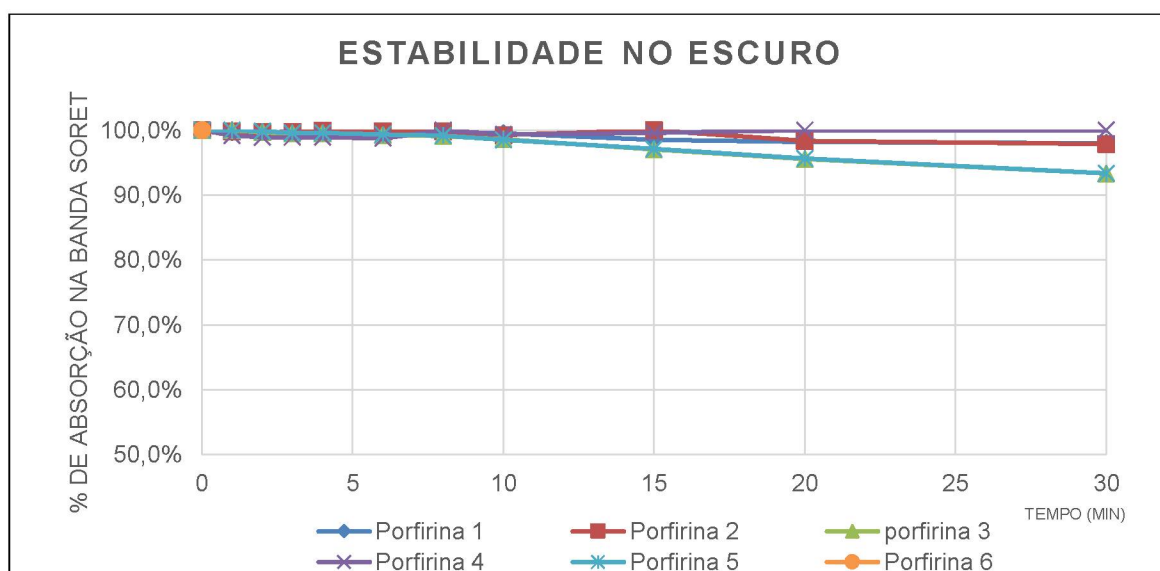


Gráfico 3: Avaliação da estabilidade no escuro dos híbridos porfirínicos 1–6.

Todas as porfirinas estudadas mostraram-se estáveis na ausência de luz durante o tempo avaliado. Este resultado demonstrou que esses compostos não sofreram degradação química em meio aquoso na ausência de luz e não apresentaram efeito de agregação, o que é muito comum entre as porfirinas. As porfirinas **3** e **5**, porfirina-1,4-di-hidropiridina A_4 e porfirina-piridina *trans*- A_2B_2 , respectivamente, após 30 minutos de avaliação, apresentaram um decaimento de absorção de 6,7%, enquanto as demais apresentaram um decaimento de absorção

que variou de 1 a 2%. Apesar deste resultado chamar a atenção, não se pode afirmar que esta porfirina está sofrendo degradação química ou agregação, pois outros estudos indicam que porfirinas que sofrem degradação química ou agregação, apresentam um decaimento de absorção na faixa de 60 a 80% (DALLAGNOL, 2014).

A observação do não decaimento da banda Soret na ausência de luz é necessária para que se possa afirmar que o comportamento na presença de luz é decorrente somente da fotoestabilidade do composto, e não decorre de outros fatores como, por exemplo, a agregação.

Tendo o experimento de estabilidade na ausência de irradiação, passou-se para os testes com incidência de luz para a avaliação da fotoestabilidade, uma vez que a integridade do anel macrocíclo durante a irradiação de luz é um fator importante para a ação fotodinâmica destas moléculas (DALLAGNOL, *et al*, 2014; VANDRESEN, *et al*, 2016).

Com relação a fotoestabilidade (GRÁFICO 4), constatou-se que os híbridos porfirínicos **2**, **4** e **5** (porfirina-1,4-di-hidropiridina *trans*-A₂B₂, porfirina-piridina A₃B e *trans*-A₂B₂, respectivamente) foram os compostos mais fotoestáveis, com decaimento da banda Soret de 6%. Estes foram seguidos pelos derivados **1** e **3** (porfirina-1,4-di-hidropiridina A₃B e A₄, respectivamente) os quais apresentaram decaimento em torno de 16%, sendo a porfirina **1** estatisticamente menos fotoestável que o seu derivado sintético (porfirina **4**). O composto menos fotoestável, segundo este ensaio, foi o híbrido porfirina-piridina A₄ **6**, que apresentou perfil de decaimento da banda Soret acima de 50%. Fotossensibilizadores menos fotoestáveis são interessantes para aplicação na medicina estética, para o tratamento da acne (HUH, *et al.*, 2012), rosáceas (STAPLETON, RHODES, 2003), ceratose actínica (TARSTEDT, *et al.*, 2005) e para tratamento do envelhecimento cutâneo (PILLOVER-PROST, CARTIER, 2016), uma vez que após serem ativados pela luz, rapidamente são degradados quimicamente, não gerando efeitos colaterais aos pacientes (UEBERLHOER, DOVER, 2005).

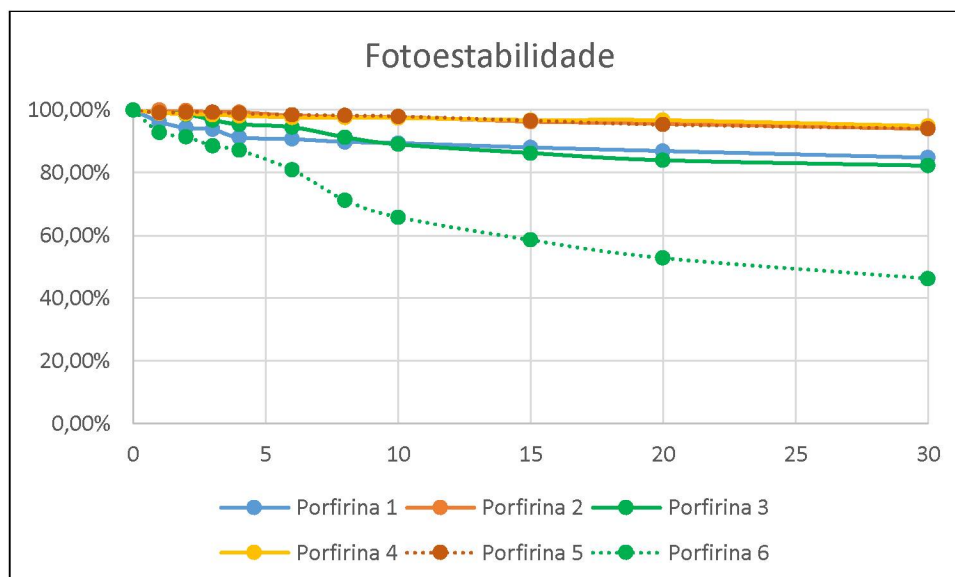
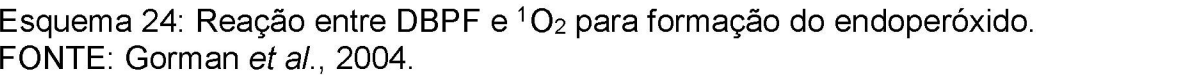


Gráfico 4: Avaliação da fotoestabilidade no claro dos híbridos porfirínicos 1–6.

5.5.3 Avaliação da geração de oxigênio singlete

O oxigênio no seu estado singlete ($^1\text{O}_2$) é a principal espécie envolvida na citotoxicidade promovida pelo fotossensibilizadores, onde inclui-se a classe das porfirinas (BECKMAN, KOPPENOL *et al.*, 1996; ZAWACKA-PANKAU *et al.*, 2008). O $^1\text{O}_2$ é uma espécie reativa de ação inespecífica e tempo de meia-vida curto, gerada pela transferência de energia do fotossensibilizador para o oxigênio tecidual, quando este é excitado na presença de luz em comprimento de onda adequado.

Primeiramente, foi realizado um teste qualitativo de avaliação da produção de $^1\text{O}_2$, seguindo a metodologia proposta por Hadjur e colaboradores (1998). Esta é uma metodologia indireta, baseada na reação do 1,3-difenilisobenzofurano (DPBF) com o $^1\text{O}_2$ gerado pelos híbridos porfirínicos. Inicialmente, o reativo receptor DPBF apresenta forte absorção no comprimento de onda de 415 nm. Após o DPBF reagir com o $^1\text{O}_2$, é gerado um produto incapaz de absorver nesta região de comprimento de onda (ESQUEMA 26). Portanto, quanto maior for o decaimento da absorbância em 415 nm, após irradiação, maior será a quantidade de oxigênio singlete gerada.



Perfil de geração de oxigênio singlete

| Minutos | DPBF | DPBF + 1 | DPBF + 2 | DPBF + 3 | DPBF + 4 | DPBF + 5 | DPBF + 6 |
|---------|------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 0 | 100% | 100% | 100% | 100% | 100% | 100% | 100% |
| 1 | 100% | 98% | 95% | 90% | 95% | 92% | 88% |
| 2 | 100% | 95% | 90% | 82% | 92% | 88% | 82% |
| 3 | 100% | 92% | 85% | 75% | 88% | 82% | 75% |
| 4 | 100% | 88% | 80% | 68% | 85% | 78% | 68% |
| 5 | 100% | 85% | 75% | 62% | 82% | 72% | 62% |
| 6 | 100% | 82% | 72% | 55% | 78% | 68% | 55% |
| 7 | 100% | 78% | 68% | 48% | 75% | 62% | 48% |
| 8 | 100% | 75% | 65% | 42% | 72% | 58% | 42% |
| 10 | 100% | 70% | 58% | 32% | 65% | 52% | 32% |
| 15 | 100% | 62% | 42% | 22% | 55% | 42% | 22% |

Gráfico 5: Perfil de geração de oxigênio singlete dos híbridos porfirínicos 1-6.

De maneira geral, quanto maior o número de substituintes distintos do grupo fenila nas posições *meso*, maior foi a geração de oxigênio singleto. Logo, os híbridos

porfirínicos com quatro substituintes (di-hidropiridínicos ou piridínicos) apresentaram maiores rendimentos de oxigênio singleto em relação aos demais híbridos porfirínicos.

Qualitativamente, segundo os resultados obtidos com a metodologia aplicada no ensaio, a geração de $^1\text{O}_2$ foi crescente para as porfirinas na seguinte ordem: porfirina **1** < porfirina **4** < porfirina **2** = porfirina **5** < porfirina **6** < porfirina **3**. Portanto, os híbridos porfirínicos **3** e seu derivado oxidado **6** foram as substâncias que geraram maior rendimento de $^1\text{O}_2$ dentre as espécies avaliadas.

5.5.4 Cálculo do rendimento quântico de $^1\text{O}_2$

Para o cálculo dos rendimentos quânticos de oxigênio singleto foi necessário a realização de ensaios empregando o composto azul de metileno. Este composto foi utilizado como referência e apresenta um rendimento quântico considerado excelente, sendo de 0,52. Para esta avaliação foram tomados os dados obtidos anteriormente nos primeiros oito primeiros minutos de irradiação, onde foi observada linearidade no decaimento da absorbância do reativo DPBF frente a irradiação, tanto na presença das amostras (híbridos porfirínicos) como na presença do padrão. Comparando-se os coeficientes angulares da reta obtida pelo *plot* do logaritmo natural da absorbância do DPBF no ponto máximo (415 nm) *versus* o tempo de irradiação pode-se obter os valores para o rendimento quântico de $^1\text{O}_2$. A seguir são mostrados dois gráficos de varredura: a primeira mostrando o decaimento da absorbância do DPBF na presença do padrão azul de metileno (GRÁFICO 6) e o segundo mostrando este comportamento frente a presença da porfirina **3** (GRÁFICO 7). Na sequência são mostrados os gráficos de decaimento da absorbância do DPBF para as demais porfirinas avaliadas (GRÁFICO 8a-f). A TABELA 10 resume os valores encontrados para o rendimento quântico de $^1\text{O}_2$ calculados segundo a equação:

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta}^{\text{Padrão}} \frac{R \cdot I_{\text{abs}}^{\text{Padrão}}}{R^{\text{Padrão}} \cdot I_{\text{abs}}}$$

Nesta equação Φ_{Δ} representa o rendimento quântico das porfirinas e $\Phi_{\Delta}^{\text{Padrão}}$ representa o rendimento quântico do padrão (para o azul de metileno $\Phi_{\Delta}^{\text{Padrão}}=0,52$). R e $R^{\text{Padrão}}$ são os coeficientes angulares do consumo do DPBF na presença das porfirinas e do azul de metileno. Uma vez que a reação é de primeira ordem, estes parâmetros podem ser obtidos do gráfico que apresenta o logaritmo natural (ln) da

absorbância do DPBF versus o tempo de irradiação. I_{abs} e $I_{\text{abs}}^{\text{Padrão}}$ são as constantes de absorção luminosa para a amostra e para o azul de metileno respectivamente, consideradas iguais no presente trabalho.

A partir dos valores obtidos no ponto máximo de absorção do DPBF (415 nm) foram traçados os gráficos de decaimento (GRÁFICO 8_{a-f}) e extraídos os valores do coeficiente angular da reta (α) utilizados no cálculo do rendimento quântico de oxigênio singlete (Φ_{Δ}). Os resultados de (Φ_{Δ}) são mostrados na TABELA 10 e comentados na sequência.

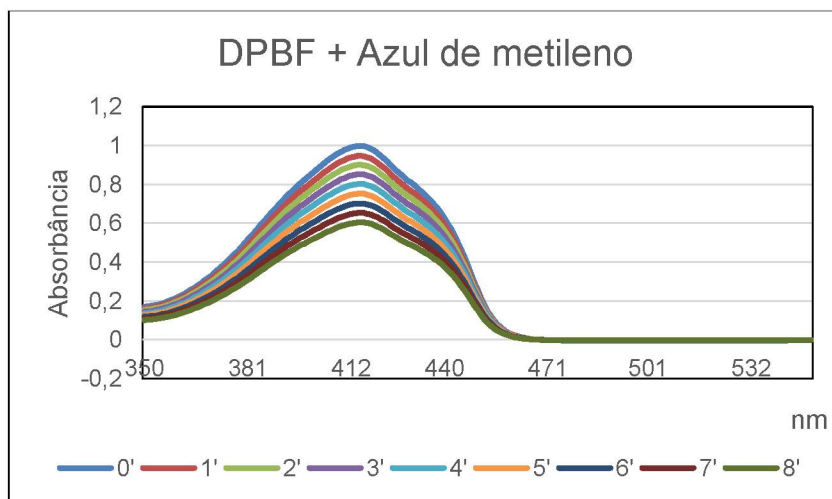


Gráfico 6: Decaimento da absorção do DPBF em 415 nm na presença do azul de metileno.

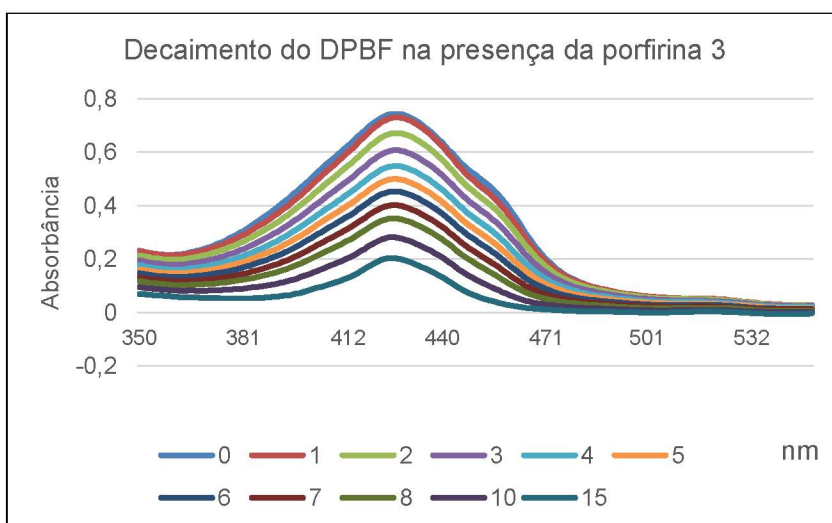


Gráfico 7: Decaimento da absorção do DPBF em 415 nm na presença do híbrido porfirina-1,4-di-hidropiridina A₄ (3).

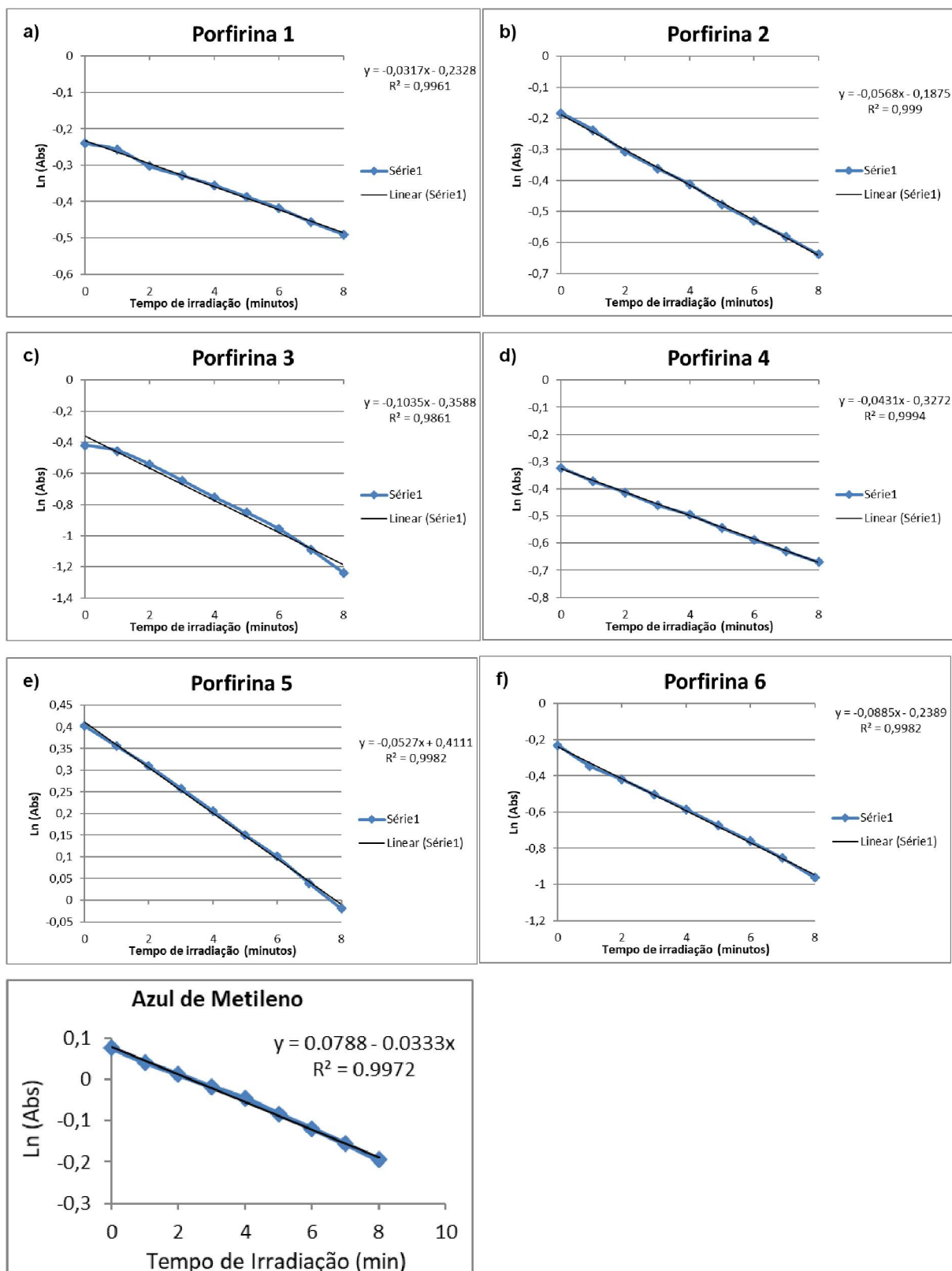


Gráfico 8: *Plot* do logaritmo natural da absorvância do DPBF (y) versus tempo de irradiação (x) das porfirinas 1-6 e do padrão azul de metileno.

| Compostos | R | ϕ_{Δ} |
|------------------------|-------|------------------|
| Azul de metileno | 0,078 | 0,52 |
| Photofrin ^a | - | 0.32 |
| Porfirina 1 | 0,031 | 0,49 \pm 0,001 |
| Porfirina 2 | 0,056 | 0,88 \pm 0,001 |
| Porfirina 3 | 0,103 | 1,65 \pm 0,001 |
| Porfirina 4 | 0,043 | 0,67 \pm 0,001 |
| Porfirina 5 | 0,052 | 0,82 \pm 0,001 |
| Porfirina 6 | 0,088 | 1,38 \pm 0,001 |

^a Dados obtidos da referência (SILVA, *et al.*, 2010).

Tabela 10: Rendimento quântico de $^1\text{O}_2$.

O rendimento quântico de oxigênio singleto gerado pela porfirina **1** pode ser considerado excelente, sendo de 0,49, uma vez que o rendimento quântico de 0,52, correspondente ao azul de metileno. A porfirina **4** apresentou rendimento quântico de 0,67, indicando que ela gera mais oxigênio singleto que o azul de metileno. As porfirinas **2** e **5** apresentaram rendimento quântico de oxigênio singleto 0,88 e 0,82, respectivamente, indicando que elas geram quase o dobro de oxigênio singleto comparado ao azul de metileno. As porfirinas **3** e **6** apresentaram rendimento quântico de oxigênio singleto 1,65 e 1,38, respectivamente, indicando que elas geram mais que o dobro de oxigênio singleto comparado ao azul de metileno. Logo, as porfirinas-1,4-di-hidropiridinas **2** e **3**, as porfirinas-piridinas **4**, **5** e **6** apresentaram rendimentos quânticos de $^1\text{O}_2$ apreciáveis, sendo superiores às quantidades encontrados para o padrão ouro na terapia fotodinâmica, Photofrin®.

6. CONCLUSÕES

No presente trabalho foram sintetizados e avaliados fotofisicamente seis novos híbridos porfirínicos inéditos, sendo três deles conjugados com 1,4-di-hidropiridinas (porfirinas **1–3**), e três conjugados com núcleo piridínico (porfirinas **4–6**), sendo todos promissores fotossensibilizadores com potencial aplicação dentro da modalidade terapêutica conhecida como terapia fotodinâmica. Foram também sintetizados dois intermediários-chave para a obtenção dos compostos porfirínicos **1–6**: o aldeído **7** e o dipirrometano **8**.

Na síntese do aldeído **7**, as condições reacionais mais vantajosas não foram aquelas propostas na literatura, e sim as condições reacionais estudadas e otimizadas no presente trabalho. De igual maneira, para síntese do dipirrometano **8** foi necessário realizar estudos de otimização das metodologias já propostas na literatura, uma vez que as condições pré-existentes proporcionavam baixos rendimentos.

Além da síntese destes novos compostos, foi realizada o estudo de rotas sintéticas para obtenção dos híbridos porfirínicos-1,4-di-hidropiridina **1** e **2**. Através da realização e comparação entre os rendimentos de diferentes rotas sintéticas com posterior otimização das etapas de síntese, foi possível alcançar dados consistentes a respeito da melhor forma de se sintetizar as substâncias em questão. Logo, para a síntese da porfirina **1** e **2**, a rota sintética envolvendo o uso de ácido propiônico e refluxo mostrou-se mais vantajosa. De igual maneira, a rota sintética que envolve o uso de ácido propiônico e refluxo foi a melhor estratégia para obtenção da porfirina-1,4-di-hidropiridina **3**. Estes resultados corroboraram com outros trabalhos que reportaram a aplicação da metodologia que envolve o uso de ácido propiônico e refluxo para síntese de porfirinas quando o aldeído possui átomos com pares de elétrons livre.

As porfirinas-piridinas **4–6** foram obtidas por meio da aromatização oxidativa com DDQ com rendimentos satisfatórios. Foi possível, por meio da análise dos espectros de RMN de H^1 e C^{13} , comprovar a aromatização oxidativa por meio da ausência do sinal do hidrogênio $H_{4'}$ ($C_{4'}-H$) que sai na faixa de 5,00 ppm e o deslocamento do carbono $C_{4'}$ de 40 ppm para 150 ppm. Todos os compostos foram identificados e caracterizados por quatro técnicas analíticas, comprovando, assim, a síntese e adequada pureza.

Com relação à avaliação do espectro eletrônico das porfirinas sintetizadas, a porfirina **2** se destacou, pois apresentou uma banda Q adicional acima de 700 nm. Esta característica é bastante importante quando se almeja o emprego do fotossensibilizador para o tratamento de tecidos profundos, pois possibilita a ativação do mesmo em comprimentos de onda do vermelho (no qual a luz apresenta maior penetração nos tecidos).

Quanto ao estudo de fotoestabilidade, as porfirinas **2**, **4** e **5** demonstraram ser as mais fotoestáveis, enquanto que a porfirina **6** demonstrou ser a menos fotoestável. Estes resultados sugerem que a porfirina **6** pode ser aplicada na medicina estética, uma vez que a terapia fotodinâmica vem sendo aplicada nessa área para o tratamento da acne, rosáceas, ceratose actínica e para amenizar o envelhecimento cutâneo.

Na geração de oxigênio singleto, as porfirinas **3** e **6** se destacaram, sendo as substâncias que mais produziram a espécie reativa dentre as porfirinas analisadas.

Apesar de apresentar baixos rendimentos sintéticos, os híbridos porfirínicos **3** e **6** são os mais promissores para o uso na terapia fotodinâmica, isto se deve ao alto rendimento quântico de geração de oxigênio singleto, o que possivelmente fará com que seja necessário baixíssimas doses para obtenção de uma resposta terapêutica efetiva. Contudo, além destes, os demais híbridos porfirínicos **1**, **2**, **4** e **5** também apresentam boas chances para o emprego na terapia fotodinâmica.

Os resultados obtidos neste trabalho são um sólido ponto de partida para a correlação de dados de experimentos fotofísicos e futuros experimentos *in vitro* e *in vivo* que se possa realizar com os compostos sintetizados a fim de se avaliar a relação estrutura-atividade dos mesmos. Além disto, direciona a elaboração de novos híbridos porfirínicos para obtenção de fotossensibilizadores mais adequados para o uso na TFD.

7. REFERÊNCIAS

- ABADA, Z. *et al.*, Synthesis of 5,15-diarylporphyrins via orthoesters condensation with aryldipyrromethanes. **Tetrahedron Letters**, v. 52, p. 3175-3178, 2011.
- ABBAS, H. A. S.; EL SAYED, W. A.; FATHY, N. M. Synthesis and antitumor activity of new dihydropyridine thioglycosides and their corresponding dehydrogenated forms. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 3, p. 973-982, 2010.
- ABRAHAMSE, H.; HAMBLIN, M. R. New photosensitizers for photodynamic therapy. **Biochemical Journal**, v. 473, n. 4, p. 347-364, 15 fev. 2016.
- ADLER, A. D. *et al.* A simplified synthesis for *meso*-tetraphenylporphine. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 32, n. 2, p. 476-476, 1967.
- ALLISON, R. R. *et al.*, Photosensitizers in clinical PDT. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 1, n. 1, p. 27-42, 2004.
- BAAS, P. *et al.*; Effect of *N*-acetylcysteine on photofrin-induced skin photosensitivity in patients. **Laser in Surgery and Medicine**, v. 16, n. 4, p. 359-367, 1995.
- BAGLEY, M. C.; LUNN, R.; XIONG, X. A new one-step synthesis of pyridines under microwave-assisted conditions. **Tetrahedron Letters**, v. 43, p. 8331-8334, 2002.
- BAKHSHESIAN, J. *et al.*, Overlapping substrate and inhibitor specificity of human and murine ABCG2. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 41, n. 10, p. 1805-1812, 2013.
- BALZANI, V.; CAMPAGNA, S. **Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds I**. 1 ed. Berlin: Springer, 2007.
- BARON, H.; REMFRY, F. G. P.; THORPE, J. F. The formation and reactions of imino-compounds. Part I: Condensation of ethyl cyanoacetate with its sodium derivate. **Journal of the Chemical Society, Transaction**, v. 85, p. 1726-1761, 1904.
- BEALE JUNIOR, J. M.; BLOCK, J. H. **Wilson and Gisvold's textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry**, 12 ed. Philadelphia: Walter Kluwer, 2015.
- BECKMAN, J. S.; KOPPENOL, W. H. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. **American Journal of Physiology**, v. 271, p. C1424-C1437, 1996.
- BOGER, D. L. Diels-Alder reactions of azadienes. **Tetrahedron**, v. 39, n. 18, p. 2869-2939, 1983.
- BOGER, D. L. Diels-Alder reactions of heterocyclic azadienes: Scope and applications. **Chemical Reviews**, v. 85, n. 5, p. 781-793, 1986.

BONNETT, R.; MARTÍNEZ, G. Photobleaching of sensitizers used in photodynamic therapy. **Tetrahedron**, v. 57, n. 591, p. 9513–9547, 2001.

BRANCALEON, L.; MOSELEY, H. Effects of photoproducts on the binding properties of protoporphyrin IX to proteins. **Biophysical Chemistry**, v. 96, p. 77–87, 2002.

BRANCALEON, L.; MOSELEY, H. Laser and non-laser light sources for photodynamic therapy. **Lasers in Medicine Science**, v.17, n. 3, p. 173-186, 2002.

BREWSTER, M. E. *et al.* Reactivity of biologically important reduced pyridines. IV. Effect of substitution on ferricyanide-mediated oxidation rates of various 1,4-dihydropyridines. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 54, n. 15, p. 3721–3726, jul. 1989.

BRITAIN, G. Porphyrin photosensitization and phototherapy. **Photochemical & Photobiological**, v. 43, n. 6, p. 681–690, 1986.

BRÜCKNER, C. *et al.*, 5,10-diphenyltripyrane, a useful building block for the synthesis of meso-phenyl substituted expanded macrocycles. **Chemical Communications**, v. 17, p. 1689-1690, 1997.

BUCHER, C. *et al.*, Novel synthesis of hybrid Calixphyrin macrocycles, **Organic Letters**, v. 2, n. 20, p. 3103-3106, 2000.

CALVETE, M. J. F.; GOMES, A. T. P. C.; MOURA, N. M. M. Clorinas em terapia fotodinâmica: síntese e aplicações. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 2, p. 92–103, 2009.

CALZAVARA-PINTON, P. G.; VENTURINI, M.; SALA, R. Photodynamic therapy: update 2006. part 1: photochemistry and photobiology. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV**, v. 21, n. 3, p. 293–302, 2007.

CAROSATI, E. *et al.*, 1,4-dihydropyridine scaffold in medicinal chemistry, the story so far and perspectives (part 2): action in other targets and antitargets. **Current Medicinal Chemistry**, 2012.

CASTANO, A. P.; DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M. R. Mechanisms in photodynamic therapy: part one-photosensitizers, photochemistry and cellular localization. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 1, n. 4, p. 279-293, 2004.

CAVALCANTE, R. **Terapia Fotodinâmica**. [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2007.

CHANG, T.; FIUMARA, N.; WEINSTEIN, L. Genital herpes: treatment with methylene blue and light exposure. **International Journal of Dermatology**, v.14, n.1, p. 69-71, 1975.

CHAUBEY, A.; PANDEYA, S. N. Pyridine: a versatile nucleuse in pharmaceutical field. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 4, n. 4, p. 5–8, 2011.

CHEN, T. *et al.*, A convergent construction of 1,4-dihydropyridine scaffold containing indole fragment. **Tetrahedron**, v. 67, n. 30, p. 5469-5476, 2011.

CHEN, X. *et al.*, Synthesis of new 1, 4-dihydropyridines by addition-rearrangement process with imine derivatives and β -ketoester as starting materials in solvent-free conditions. **Letters in Organic Chemistry**, v. 6, n. 3, p. 213–218, 2009.

CHEN, Y.; LI, G.; PANDEY, R. Synthesis of bacteriochlorins and their potential utility in photodynamic therapy (PDT). **Current Organic Chemistry**, v. 8, n. 12, p. 1105–1134, 2004.

CHILAKAMARTHI, U.; GIBABU, L. Photodynamic therapy: past, present and future. **The Chemical Records**, v. 17, n. 8, p. 775-802, 2017.

CIAMICIAN, G. L.; DENNSTEDT, M. Ueber die einwirkung des chloroforms auf die kaliumverbindung pyrrols. **Chemische Berichte**, v. 14, n. 1, p. 1153-1163, 1881.

DALLAGNOL, J. C. C. *et al.*, Synthesis of porphyrin glycoconjugates bearing thiourea, thiocarbamate and carbamate connecting groups: Influence of the linker on chemical and photophysical properties. **Dyes and Pigments**, v. 107, p. 69–80, ago. 2014.

DALLAGNOL, J. C. C. Síntese e avaliação fotofísica de derivados porfirínicos conjugados através de grupos tiocarbamida, tiocarbamato e carbamato [Dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2014.

DANIELL, M. D.; HILL, J. S. A History of Photodynamic Therapy. **Australian and New Zealand Journal of Surgery**, v. 61, n. 5, p. 340-348, 1991.

DONDONI, A. *et al.*, Model studies toward the synthesis of dihydropyrimidyl and pyridyl 2-amino acids via three- component Beginelli and Hantzsch cyclocondensation. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 66, n. 16, p. 6172-6183, 2003.

DONNELLY, R. F.; MCCARRON, P. A.; TUNNEY, M. M. Antifungal photodynamic therapy. **Microbiological Research**, v. 163, n. 1, p. 1–12, 2008.

DOUGHERTY, T. J. A Brief History of Clinical Photodynamic Therapy Development at Roswell Park Cancer Institute. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**, v. 14, n. 5, p. 219–221, out. 1996.

DOUGHERTY, T. J. *et al.*, Review: Photodynamic Therapy. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 90, n. 12, p. 889-905, 1998.

DUCATTI, D. R. B. **Hidrólise ácida de galactanas para produção de oligossacarídeos e C-glicosídeos: semi-síntese de N-alkil e C-dihidropiridina glicosídeos** [Tese]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2009.

DUSKA, L. R. *et al.*, Combination Photoimmuno-therapy and Cisplatin: Effects on Human Ovarian Cancer Ex Vivo. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 91, n. 18, p. 1557-1563, 1999.

EDRAKI, N. *et al.*, Dihydropyridines: evaluation of their current and future pharmacological applications. **Drug Discovery Today**, v. 14, n. 21–22, p. 1058–1066, 2009.

EISNER, U.; KUTHAN, J. The Chemistry of Dihydropyridines. **Chemical Reviews**, v. 72, n. 1-42, 1972.

ETHIRAJAN, M. *et al.*, The role of porphyrin chemistry in tumor imaging and photodynamic therapy. **Chemical Society Reviews**, v. 40, p. 340-362, 2011

FELSHER, D. W. Cancer revoked: Oncogenes as therapeutic targets. **Nature Reviews Cancer**, v. 3, n. 5, p. 375-380, 2003.

GAD, F. *et al.* Effects of growth phase and extracellular slime on photodynamic inactivation of gram-positive pathogenic bacteria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 6, p. 2173–2178, 2004.

GARABATOS-PERERA, J. R.; ROTSTEIN, B. H.; THOMPSON, A. Comparison of benzene, nitrobenzene and dinitrobenzene 2-arylsulfenulpyrroles. **Journal of Organic Chemistry Notes**, v. 72, p. 7382-7385, 2007.

GOLDMANN, S. *et al.*, Synthesis, pharmacological effects and conformation of 4,4-disubstituted 1,4-dihydropyridines. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 33, n. 5, p. 1413-1418, 1990.

GRIN, M. A.; MIRONOV, A. F.; SHTIL, A. A. Bacteriochlorophyll a, and its derivatives: chemistry and perspectives for cancer therapy. **Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 683–97, 2008.

GUANAES, L. D. *et al.*, Synthesis of pyridinium salts from N-substituted dihydropyridines with BF₃OEt₂ the absence of added oxidants. **Tetrahedron Letters**, v. 56, n. 15, 2015.

GUANAES, L. D. **Obtenção de sais de piridínio e piridinas através da oxidação de di-hidropiridinas de Hantzsch** [Dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2015.

GUZMAN, A. *et al.*, Vielsmeier-Haack reaction with glutarimides: synthesis of 2,6-dichloro-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxyaldehydes. **The Journal of Organic Chemistry**, v.55, n.22, p. 5793-5797, 1990.

HADJUR, C. *et al.*, Spectroscopic studies on photobleaching and photoproduct formation of meta(tetrahydroxyphenyl)chlorine (m-THPC) used in photodynamic therapy. The production of singlet oxygen by m-THPC. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 45, p. 170-178, 1998.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free Radicals in Biology & Medicine, 5 ed. Oxford: OUP Orxford, 2015.

HANKOVSKY, O. H. *et al.*, Synthesis of Spin-Labelled 1,4-dihydropyridines and pyridines. **Synthesis**, v. 1991, n. 1, p. 91-97, 1991.

HANTZSCH, A. R. Ueber die synthese pyridinartiger verbindungen aus acetessigather und aldehydammoniak. **Justus Liebigs Annalen der Chemie**, v. 215, p. 1–82, 1882.

HENDERSON, B. W.; DOUGHERTY, T. J. How does photodynamic therapy work? **Photochemistry and Photobiology**, v. 55, n. 1, p. 145–157, 1992.

HENRY, G. D. Synthesis of substituted pyridines. **Tetrahedron**, v. 60, n. 29, p. 6043–6061, 2004.

HILL, M. D. Recent Strategies for the synthesis of pyridine derivatives. **Chemistry A European Journal**, v.16, n.40, p.12052-12062, 2010.

HOLLINS, C. **The Synthesis of Nitrogen Ring Compounds**, 1 ed. Nova Iorque: Wiley, 1924.

HUANG, H. C. *et al.*, Photodynamic therapy synergizes with irinotecan to overcome compensatory mechanisms and improve treatment outcomes in pancreatic cancer. **Cancer Research**, v. 76, n. 5, p. 1066-1077, 2016.

HUH, S. Y. *et al.*, The effect of photodynamic therapy using indole-3-acetic acid and green light on acne vulgaris. **Annals of dermatology**, v. 24, n. 1, p. 56-60. 2012.

ISHIKAWA, T. *et al.* Role of Nrf2 in Cancer Photodynamic Therapy: Regulation of Human ABC Transporter ABCG2. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, n. 9, p. 3058–3069, 2013.

IUPAC. Definitive Rules for Nomenclature of Organic Chemistry. J. Am. Chem. Soc., v.28, p. 5545-5574, 1960.

IUPAC. Nomenclature of Carbohydrates (Recommendations 1996) - Glycosides and glycosyl compounds. Disponível em: <<http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/2carb/33.html#331>>. Acesso em: 14mar2012, 1996.

JIA, X. Catalytic aromatization of 1,4-dihydropyridine by radical cation salt prompted aerobic oxidation. **Tetrahedron Letters**, v. 55, n. 1, p. 264-266, 2014.

JOSEFSEN, L. B.; BOYLE, R. W. Photodynamic therapy and the development of metal-based photosensitisers. **Metal-based drugs**, v. 2008, p. 276109, jan. 2008.

JOULE, J. A; MILLS, K. **Heterocyclic Chemistry at a Glance**, 2 ed. Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2013.

KARAMI, B. *et al.*, Tungstate sulfuric acid/KMnO₄ as a novel heterogeneous system of rapid aromatization of Hantzsch 1,4-dihydropyridines under mild conditions. **Heterocyclic Communications**, v. 11, n. 6, p. 513-516, 2005.

KATRITZKY, A. R.; LAM, J. N. Heterocyclic N-oxides and N-imides. **Heterocycles**, v. 33, n. 2, p. 1011-1049, 1992.

KAWASE, M.; MOTOHASHI, N. New Multidrug Resistance Reversal Agents. **Current Drug Targets**, v. 4, p. 31–43, 2003.

KESSEL, D. THOMPSON, P. Purification and Analysis of Hematoporphyrin and Hematoporphyrin derivate by Gel Exclusion and Reverse-phase Chromatography. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 46, n.6, p. 1023-1025, 1987.

KHEDKAR, S. A.; AUTI, P. B. 1, 4-Dihydropyridines: A Class of Pharmacologically Important Molecules. **Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 282–290, 2014.

KISHBAUGH, T. L. S. Pyridines and Imidazopyridines with Medicinal Significance. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 3274–3302, 2016.

KIUE, A. *et al.* Activities of Newly Synthesized Dihydropyridines in Overcoming of Vincristine Resistance, Calcium Antagonism, and Inhibition of Photoaffinity Labeling of P-Glycoprotein in Rodents. **Cancer Research**, v. 50, n. 2, p. 310–317, 1990.

KLOPMAN, G.; SHI, L. M.; RAMU, A. Quantitative Structure-Activity Relationship of Multidrug Resistance Reversal Agents. **The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 52, p. 323–334, 1997.

KOZIKOWSKI, A. P.; HASAN, N. M. Oxidizes in organic chemistry: synthesis of antitumoral agent ellipticine. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 42, n. 11, p. 2039-2040, 1977.

KRISHNAMURTHY, P.; SCHUETZ, J. D. ROLE OF ABCG2/BCRP IN BIOLOGY AND MEDICINE. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, 2006.

KRISHNAMURTHY, P.; SCHUETZ, J. D. Role of ABCG2/BCRP in biology and medicine. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 46, p. 381-410, 2006.

KRÖHNKE, F.; *et al.*, Synthesis using the Michael Addition of Pyridinium Salt. **Angewandte Chemie International Edition**, v.1, n. 12, p. 626-632, 1962.

KUMAR, A.; MAURYA, R. A. Synthesis of polyhydroquinoline derivatives through unsymmetric Hantzsch reaction using organocatalysts. **Tetrahedron**, v. 63, n. 9, p. 1946–1952, 2007.

LANG, K.; MOSINGER, J.; WAGNEROVÁ, D. M. Photophysical properties of porphyrinoid sensitizers non-covalently bound to host molecules; models for photodynamic therapy. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 248, n. 3–4, p. 321–350, 2004.

LEE, C. H.; LINDSEY, J. S. One-Flask Synthesis of Meso-Substituted Dipyrromethanes and Their Application in the Synthesis of Trans-Substituted Porphyrin Building Blocks. **Tetrahedron**, v. 50, n. 39, p. 11427-11440, 1994.

LEMKE, T. L; WILLIAMS, D. A. **Foye's Principles of Medicinal Chemistry**, 6 ed. Philadelphia: Walter Kluwer, 2008.

LI, J. J. **Name Reaction in Heterocyclic Chemistry**, 3 ed. Nova Iorque: Wiley, 2005.

LINDSEY, J. S. *et al.*, Rothmund and Adler-Longo reactions revisited: synthesis of tetraphenylporphyrins under equilibrium conditions. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 827–836, 1987.

LÓ, S. M. *et al.*; Synthesis of peracetylated C-1-deoxyalditol- and C-glycoside-dipyrroles via dithioacetal derivatives. **Tetrahedron Letters**, v. 54, p. 1137-1140, 2013.

LÓ, S. M. S. *et al.*, Synthesis of meso-tetraarylporphyrins using SeO₂ as oxidant. **Tetrahedron Letters**, v. 52, n. 13, p. 1441–1443, 2011.

MARTINEZ, J. J. *et al.*, Dehydration of xylose to furfural and its valorization via different multicomponent reactions using sulfonated silica with magnetic properties as recyclable catalyst. **Catalysis Letters**, v. 144, n. 7, p. 1322–1331, 2014.

MATTOS, M. C. DE; MARZORATI, L. Aspectos Mecanísticos da Adição de Michael. **Química Nova**, v. 22, p. 710–714, 1999.

MCDONAGH, A. F. Phototherapy: From Ancient Egypt to the New Millennium. **Journal of Perinatology**, v. 21, n. 1, p. 7-12, 2001.

METIN, A. *et al.*, Synthesis of dipyrromethene functionalized monomer and optoelectrochromic properties of its polymer. **European Polymer Journal**, v. 44, p. 2567-2573, 2008.

MILGROM, L. R. **The Colours of life: an introduction to the Chemistry of Porphyrins and Related**, 1 ed. New York: Compounds. Oxford University Press, 1997.

MIRI, R.; MEHDIPOUR, A. Dihydropyridines and atypical MDR: A novel perspective of designing general reversal agents for both typical and atypical MDR. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 18, p. 8329–8334, 2008.

MISRA, S. *et al.* Role of Ca²⁺ ion on Leishmania-macrophage attachment. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 102, n. 1, p. 8–13, 1991.

MITHLESH *et al.* Rapid synthesis and biological evaluation of 1,4-dihydropyridine derivatives containing a benzothiazolyl moiety. **Central European Journal of Chemistry**, v. 8, n. 1, p. 163–173, 2010.

NELSON, D. L. O.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. Nova Iorque: W.H. Freeman and Company, 3 ed. p. 1304, 2000.

NIELSEN, D.; SKOVSGAARD, T. P-glycoprotein as multidrug transporter: a critical review of current multidrug resistant cell lines. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1139, n. 3, p. 169–183, 1992.

OCHSNER, M. Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours. **Journal of Photochemistry and Photobiology B**, v. 39, n. 1, p. 1-18, 1997.

ORENSTEIN, A. *et al.*, A comparative study of tissue distribution and photodynamic therapy selectivity of chlorin e6, Photofrin II and ALA-induced protoporphyrin IX in a colon carcinoma model. **British Journal of Cancer**, v. 73, n. 8, p. 937–944, 1996.

PALIT, P.; ALI, N. Oral therapy with amlodipine and lacidipine, 1,4-dihydropyridine derivatives showing activity against experimental visceral leishmaniasis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 1, p. 374–377, 2008.

PASS, H. I. Photodynamic Therapy in Oncology: mechanisms and Clinical Use. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 86, n. 6, p. 443–456, 1993.

PATRICE, T. **Comprehensive series in Photodynamic and Photobiological Sciences vol 2**, 2 ed. British: The Royal Society of Chemistry, 2016.

PAVIA, D. L.; *et al.*, **Introdução à Espectroscopia**, 1ed. Boston: Ceangage Learning, 2010.

PERUSSI, J. R. Inativação fotodinâmica de microrganismos. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 988–994, 2007.

PHILIP, P. A. *et al.* a Phase-I Study on the Reversal of Multidrug Resistance (Mdr) In vivo - Nifedipine Plus Etoposide. **British Journal of Cancer**, v. 65, n. 2, p. 267–270, 1992.

PILLOVER-PROST, L.; CARTIER, H. Photodynamic photo rejuvenation: A review. **Dermatology Surgery**, v. 42, n. 1, p. 21-30, 2016.

PLAETZER, K. *et al.* Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: fundamental aspects. **Lasers in medical science**, v. 24, n. 2, p. 259–68, 2009.

PROFIO, A. E.; DOIRON, D. R. Transport of light in tissue in photodynamic therapy. **Photochemistry and Photobiology**, v. 46, n. 5, p. 591-599, 1987.

REGO FILHO, F. M. G. **Aspectos ópticos e histopatológicos do uso combinado de técnicas cirúrgicas com terapia fotodinâmica** [Tese]. Maceió: Universidade Federal de Alagoas, 2013.

REIMÃO, J. Q.; SCOTTI, M. T.; TEMPONE, A. G. Anti-leishmanial and anti-trypanosomal activities of 1,4-dihydropyridines: In vitro evaluation and structure-activity relationship study. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 8044–8053, 2010.

RICHARDS-KORTUM, R.; SEVICK-MURACA, E. Quantitative optical spectroscopy for tissue diagnosis. **Annual Review of Physical Chemistry**, v.4, n. 4, p. 555-606, 1996.

ROITMAN, L.; EHRENBERG, B.; KOBAYASHI, N. Spectral properties and absolute determination of singlet oxygen production yield by naphthaloporphyryns. **Journal of Photodynamic and Photobiology A: Chemistry**, v. 77, n. 4, p. 23-28, 1994.

ROTHERMUND, P. A New Porphyrin Synthesis. The Synthesis of Porphin. *Journal of the American Chemical Society*, v. 58, n. 4, p. 625-627, 1936.

ROTHERMUND, P. A New Porphyrin Synthesis. The Synthesis of Porphin. **Journal of the American Chemical Society**, v. 58, n. 4, p. 625-627, 1936.

SCHLAG, P. M.; STEIN, U.; EGGERMONT, A. M. M. **Regional Cancer Therapy: cancer drug discovery and development**. 1 ed. New Jersey: Human press, 2007.

SENGE, M. O. *m*THPC-A drug on its way from second to third generation photosensitizer ? **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 9, n. 2, p. 170-179, 2012.

SHARCKLEY, D.C.; *et al.*, Light penetration in bladder tissue: implications for the intravesical photodynamic therapy of bladder tumors. **BJU International**, v. 86, n. 6, p. 638 -643, 2000.

SHARMAN, W.; ALLEN, C.; VAN LIER JE. Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications. **Drug discovery today**, v. 4, n. 11, p. 507-517, nov. 1999.

SHUDO, N. *et al.* Two Pyridine Analogues with More Effective Ability to Reverse Multidrug Resistance and with Lower Calcium Channel Blocking Activity Than Their Dihydropyridine Counterparts. **Cancer Research**, v. 50, n. 10, p. 3055-3061, 1990.

SHUKLA, S. *et al.*, The calcium channel blockers, 1,4-dihydropyridines, are substrates of the multidrug resistance-linked ABC drug transporter, ABCG2. *Biochemistry*, v. 45, n. 29, p. 8940-8951, 2006.

SILVA P, FONSECA SM, ARRANJA CT, BURROWS HD, URBANO AM, S. A. A new nonconjugated naphthalene derivative of meso-tetra-(3-hydroxy)-phenylporphyrin as a potential sensitizer for photodynamic therapy. **Photochemistry and Photobiology**, v. 86, p. 1147-53, 2010.

SIRISHA, K.; ACHAIHAH, G.; REDDY, V. M. Facile synthesis and antibacterial, antitubercular, and anticancer activities of novel 1,4-dihydropyridines. **Archiv der Pharmazie**, v. 343, n. 6, p. 342-352, 2010.

SLOBBE, P.; RUIJTER, E.; ORRU, R. V. A. Recent applications of multicomponent reactions in medical chemistry. **Medicinal Chemistry Communication**, v. 3, p. 1189-1218, 2012.

SPIKES, J. D. New trends in photobiology: Chlorins as photosensitizers in biology and medicine. **Journal of Photochemistry and Photobiology B**, v. 6, n. 3, p. 259-274, 1997.

SPRUNG, M. A. A summary of the reactions of aldehydes with amines. **Chemical Reviews**, v. 26, n. 3, p. 297-338, 1940.

STAPLETON, M.; RHODES, L. E. Photosensitizers for photodynamic therapy of cutaneous diseases. **Journal of Dermatological Treatment**, v. 14, n. 2, p. 107-112, 2003.

STILL, W. C.; KAHN, M.; MITRA, A. Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution. **Journal of Organic Chemistry**, v. 43, n. 14, p. 2923-2925, 1978.

TANABE, H. *et al.*, Newly synthesized dihydropyridine derivatives as modulators of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 6, n. 11, p. 2219-2227, 1998.

TARSTED, M. *et al.*, A randomized multicenter study to compare two treatment regimens of topical methyl aminolevulinate (Metvix®)-PDT in actinic keratosis of the face and scalp. **Acta Dermato-Venerologica**, v. 85, n. 5, p. 424-428, 2005.

TASAKA, S. *et al.*, Synthesis and structure-activity analysis of novel dihydropyridine derivatives to overcome multidrug resistance. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 11, n. 2, p. 275-277, 2001.

TEMPONE, A. G.; TANIWAKI, N. N.; REIMÃO, J. Q. Antileishmanial activity and ultrastructural alterations of *Leishmania (L.) chagasi* treated with the calcium channel blocker nimodipine. **Parasitology Research**, v. 105, p. 499-505, 2009.

TENG, F.; KONG, F.; LIU, Q. Dimethyl 4-(4-formylphenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate. **Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online**, v. 64, n. 1, p. o293-o293, 2008.

TESTA, R. *et al.*, Lercanidipine: A Novel 1,4-Dihydropyridine Calcium Antagonist for Hypertension. **Cardiovascular Drug Review**, v. 15, n. 3, p. 187-219, 1997.

THAMYONGKI, P. *et al.*, Alkylthio unit an α -pyrrole protecting group for use in dipyrromethene synthesis. **Journal of Organic Chemistry, Articles**, v. 17, p. 903-910, 2006.

TOMÉ, J.; NEVES, M.; TOMÉ, A. Synthesis of glycoporphyrin derivatives and their antiviral activity against herpes simplex virus types 1 and 2. **Bioorganic & medicinal**, v. 13, p. 3878-3888, 2005.

UEBELHOER, N. S.; DOVER, J. S. Photodynamic therapy for cosmetic applications. **Dermatology Therapy**, v. 18, n. 3, p. 242-252, 2005.

URBANI, M. *et al.*, Meso-substituted porphyrins for dye-sensitized solar cells. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 24, p. 12330–12396, 2014.

VANDRESEN, C. C. *et al.*, *In vitro* photodynamic inactivation of conidia of the phytopathogenic fungus *Colletotrichum graminicola* with cationic porphyrins. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 11, n. 5, p. 673–681, 2016.

WAINWRIGHT, M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 42, p. 13–28, 1998.

WAKABAYASHI, K. *et al.*, Human ABC transporter ABCG2 in xenobiotic protection and redox biology. *Drug Metabolism Reviews*, v. 38, n. 3, p. 371–391, 2006.

WANG, L.-M. *et al.* Facile Yb(OTf)₃ promoted one-pot synthesis of polyhydroquinoline derivatives through Hantzsch reaction. **Tetrahedron**, v. 61, n. 6, p. 1539–1543, 2005.

WANG, Z. **Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents**, 1 ed. Nova Jersey: Wiley, 2010.

YOSHINARI, T. *et al.*, Cancer chemotherapy and pharmacology Reversal of multidrug resistance by new dihydropyridines with lower calcium antagonistic activity. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 24 n. 6, p. 367–370, 1989.

ZAWACKA-PANKAN, J. *et al.*, The p-53-mediated cytotoxicity of photodynamic therapy of cancer: recent advance. **Toxicology Applied in Pharmacy**, v. 232, p. 487–497, 2008.

ZHOU, K. *et al.*, Synthesis and antihypertensive activity evaluation in spontaneously hypertensive rats of nitrendipine analogues. **Medicinal Chemistry Research**, v. 20, n. 8, p. 1325–1330, 2011.

ZHOU, X. F. *et al.*, New 4-aryl-1,4-dihydropyridines and 4-arylpyridines as P-glycoprotein inhibitors. *Drug Metabolism and Disposition*, v. 33, n. 3, p. 321–328, 2005.

